

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 A61K 35/14, A61M 1/34	AI	(11) 国際公開番号 WO 93/03740 (43) 国際公開日 1993年3月4日 (04.03.1993)
(21) 国際出願番号 PCT/JP92/01064 (22) 国際出願日 1992年8月24日 (24. 08. 92) (30) 優先権データ 特願平3/233702 1991年8月22日 (22. 08. 91) JP 特願平4/204265 1992年7月9日 (09. 07. 92) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 旭メディカル株式会社 (ASAHI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP] 〒100 東京都千代田区千代田1丁目1番1号 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 福田達也 (FUKUDA, Tatsuya) [JP/JP] 〒870 大分県大分市大字横田144-1 Oita, (JP) 西村隆雄 (NISHIMURA, Takao) [JP/JP] 〒870 大分県大分市大字志村468 Oita, (JP) 山脇直邦 (YAMAWAKI, Naokuni) [JP/JP] 〒870 大分県大分市法勝台1丁目10番2号 Oita, (JP) (74) 代理人 弁理士 片桐光治 (KATAGIRI, Mitsuji) 〒107 東京都港区赤坂4丁目3番1号 共同ビル赤坂312号 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 AT (欧州特許), BE (欧州特許), CH (欧州特許), DE (欧州特許), DK (欧州特許), ES (欧州特許), FR (欧州特許), GB (欧州特許), GR (欧州特許), IE (欧州特許), IT (欧州特許), LU (欧州特許), MC (欧州特許), NL (欧州特許), SE (欧州特許), US. 添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title : FILTER MEDIUM FOR SELECTIVE REMOVAL OF LEUKOCYTES AND DEVICE PACKED THEREWITH

(54) 発明の名称 白血球選択除去フィルター材およびそれを充填してなる装置

(57) Abstract

A filter medium for selectively removing leukocytes from a suspension thereof, which is prepared from a porous element with a mean pore diameter of 1-25 μm and wherein the total pore volume of the element is 0.40-0.95 ml/ml of the element and the volume of pores with diameters of 1-30 μm accounts for at least 90 % of the total pore volume; and a filter packed therewith for use in selectively removing leukocytes. The use of this medium serves to remove leukocytes to a residual leukocyte content of 10^{-4} or less without increasing the pressure loss and to reduce the size of a filter for selectively removing leukocytes.

(57) 要約

平均孔径が1～25 μm の多孔質素子からなり、該多孔質素子の全細孔容積が0.40～0.95 ml/ml（多孔質素子）であって、このうち孔径1～30 μm の細孔部分の容積が全細孔容積の90%以上である、白血球浮遊液から白血球を選択的に除去するための白血球選択除去フィルター材、およびそれぞれを充填してなる白血球選択除去フィルター装置が開示される。このフィルター材により圧力損失を増大させず、白血球残存率が 10^{-4} 以下になるまで白血球をを除去することができ、また白血球選択除去フィルター装置の小型化を可能にする。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT	オーストリア	FI	フィンランド	MR	モーリタニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	MW	マラウイ
BB	バルバドス	GA	ガボン	NL	オランダ
BE	ベルギー	GB	イギリス	NO	ノルウェー
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	NZ	ニュージーランド
BG	ブルガリア	GR	ギリシャ	PL	ポーランド
BJ	ベナン	HU	ハンガリー	PT	ポルトガル
BR	ブラジル	IE	アイルランド	RO	ルーマニア
CA	カナダ	IT	イタリア	RU	ロシア連邦
CF	中央アフリカ共和国	JP	日本	SD	スーダン
CG	コンゴ	KP	朝鮮民主主義人民共和国	SE	スウェーデン
CH	スイス	KR	大韓民国	SK	スロヴァキア共和国
CI	コートジボアール	LI	リヒテンシュタイン	SN	セネガル
CM	カメルーン	LK	スリランカ	SU	ソヴィエト連邦
CS	チェッコスロヴァキア	LU	ルクセンブルグ	TD	チャード
CZ	チェッコ共和国	MC	モナコ	TG	トーゴ
DE	ドイツ	MG	マダガスカル	UA	ウクライナ
DK	デンマーク	ML	マリ	US	米国
ES	スペイン	MN	モンゴル		

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

1

明細書

白血球選択除去フィルター材およびそれを充填してなる装置
技術分野

本発明は多孔質素子からなるフィルター材およびそれを充填してなる白血球選択除去フィルター装置に関する。詳しくは、全血、赤血球製剤または血小板製剤等の白血球を含有する白血球浮遊液から白血球を効率よく除去することのできる白血球選択除去フィルター材、およびそれを充填してなる小型で圧力損失の増加が抑制される白血球選択除去フィルター装置に関する。

背景技術

近年、免疫学、輸血学の進歩に伴い、従来の全血輸血から種々の疾患の治療に必要な成分のみを輸血する成分輸血が行われるようになってきている。成分輸血は輸血による患者への負荷を軽減し、かつ治療効果が高まる優れた輸血療法であり、成分輸血に用いられている各種の血液製剤、即ち濃厚赤血球（C R C）、濃厚血小板（P C）、乏血小板血漿（P P P）等は献血によって得られた全血を遠心操作で分離して調製される。しかしながら、遠心操作によって分離された血液製剤中には多くの白血球が含まれており、この混入白血球が原因で輸血後副作用が誘発されることが明らかになってきた。輸血後副作用としては、頭痛、吐き気、悪寒、非溶血性発熱反応などの比較的軽微な副作用から、免疫障害をもつ患者に

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

2

対しては、輸血された白血球が受血者の皮膚、内部器官に致死的影響を与える移植片対宿主（GVH）反応の誘発や、サイトメガロウィルス感染等の白血球中に存在するウィルスによる感染、アロ抗原感作などの重篤な副作用が知られている。このような輸血後副作用を防止するためには、血液製剤に混入している白血球を捕捉、除去することが有効である。

通常、全血、赤血球製剤等の輸血に用いられる血液製剤中には 10^7 個/mlの白血球が含まれている。頭痛、吐き気、悪寒、発熱反応などの比較的軽微な副作用を防止するためには、1回の輸血で受血者に輸注される白血球数を1億個程度以下に抑える必要があるとされており、これは血液製剤中の白血球の残存率を $10^{-1} \sim 10^{-2}$ 以下になるまで除去することにより達成されるが、アロ抗原感作およびウィルス感染を予防するためには、白血球残存率を $10^{-4} \sim 10^{-6}$ 以下になるまで除去することが必要である。

血液製剤から白血球を除去する方法としては、血液の比重差を利用した遠心分離方法と、不織布などの繊維状多孔性媒体や三次元網目状連続細孔を有する多孔質体などをフィルター材としたフィルター法の2種に大別されるが、白血球除去効率の良いこと、操作の簡便なこと、コストの低いことの利点からフィルター法が広く用いられている。

このため白血球除去フィルター装置の開発は近年特にめざましいが、高い白血球除去能とともに血球目詰まりによる圧

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

3

力損失の増加のない、血液濾過を円滑に行える白血球除去フィルター装置の開発が切望されている。

白血球の除去機構は主として粘着によるとされているため、同じ素材で同様な表面を有するフィルター材の白血球除去能の差は、フィルター材と白血球の衝突頻度の大小により生ずると考えられる。従って、白血球除去能を高めるためには、白血球が粘着すべきフィルター材の表面積が大きい方がフィルター材と白血球との衝突頻度が増すため好ましい。実際、フィルター材の表面積を高めるために、不織布等の繊維状多孔性媒体をフィルター材とする場合には、平均繊維径が $1 \sim 3 \mu\text{m}$ 程度の極細繊維が主として用いられ（日本国特開昭 60-193468）、また均一な平均孔径を有する多孔質体をフィルター材とする場合には、平均孔径が $5 \sim 20 \mu\text{m}$ 程度と小さい孔径を有するものが主として用いられている（日本国特公昭 63-26089、日本国特開平 3-173825）。

また、白血球除去フィルター装置の単位体積当りの白血球除去能を高めるためには、不織布等の繊維状多孔性媒体をフィルター材として用いる場合、一般的には不織布などの充填密度を高めて実質的にフィルター材量を増量するか、さらに繊維径の細い不織布に切り替える必要があった。通常充填密度の上限は、 0.4 g/cm^3 程度であり、これ以上高めると、不織布の反発力によって、容器内に充填することが困難

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

4

になるか、これを避けるために熱プレスなどを行えば、不織布がフィルム状につぶれてしまい、もはやフィルター材としての機能を果たさなくなる。従って、白血球除去能を高めるための方法としては、充填密度 0.4 g/cm^3 以下の範囲内でフィルター材を増量するか、より繊維径の小さなフィルター材を用いなければならなかった。また、均一な平均孔径を有する多孔質体をフィルター材として用いる場合、孔径をより小さくしなければならなかった。しかしながら、これら何れの場合においても、白血球除去能の向上にともなって、血液製剤を通過させる際の圧力損失が増大してしまい期待する血液量进行处理し終わる前に、処理速度が極端に低下するという問題があった。

一方、多孔質体としてのスポンジ状構造物については、特開平 1-224324 号に白血球による目詰まりの恐れのない白血球分離材として、バブルポイントが $0.08 \sim 0.3 \text{ kg/cm}^2$ である多孔質体が開示されている。しかしながら、本発明者等が検討した結果、該白血球分離材は血液製剤中に混入している白血球を $10^{-2} \sim 10^{-3}$ に減ずる程度の白血球除去能しか発揮しない。白血球残存率 10^{-4} を達成するために、比較的小さな平均孔径を有する多孔質体を用いる場合には、次のような問題を有するものであった。即ち、多孔質体は至適な平均孔径のものをを用いれば、不織布に比べ、数分の一の厚みで同等の白血球除去能を示し、小型化を達成す

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

5

る上で有力な手段を提供し得るものであるが、このような高い白血球除去能を示すものは、同時に白血球の目詰まりによる圧力損失が高く、繊維径が細い不織布を用いるのと同様に、血液の処理速度が著しく低下するという問題を有していた。

このような問題を解決するためにE P O 4 0 6 4 8 5 A 1号には、平均孔径が血液上流側から下流側に向かって減少する多孔質体を充填し、血液上流側のフィルター材表面での血球目詰まりを防止する白血球除去フィルター装置が開示されている。ところが、ここで開示されている白血球除去フィルター装置を用いると、血球目詰まりによる圧力損失の増加や濾過時間の長時間化といった現象は見られないが、白血球の中でも低粘着性、小粒子径のリンパ球の漏出を防止するには不十分であり、白血球残存率が $10^{-1} \sim 10^{-2}$ 程度での白血球除去しか達成できない。

このように従来 of 白血球除去フィルター装置では白血球残存率を 10^{-4} 以下にする高い白血球除去能を有し、かつ血液濾過を円滑に行い得るものは未だ提案されていない。

また、白血球除去フィルター装置の小型化も、高白血球除去能、血液濾過の円滑化と同様、白血球除去フィルター装置に求められている重要な要素である。白血球除去操作終了後にフィルター内に残留する血液製剤は、通常フィルターと共に廃棄される。それ故無駄に捨ててしまう血液製剤の量をできるだけ少なくするために、ホールドアップ体積の小さいフィ

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

6

ルターが求められているのである。ここで言うフィルターのホールドアップ体積とは、白血球除去フィルター装置の内容積を指す。一般に、フィルターと共に廃棄される血液製剤の量を10～15%以下の低いレベルにとどめることが望ましく、そのためには、全血または赤血球製剤としては1単位当りのホールドアップ体積35ml以下、血小板製剤用としては5単位当りのホールドアップ体積20ml以下の小型フィルターとすることが好ましいとされている。

また、フィルター材の表面積が大きく、またさらに白血球除去フィルター装置のホールドアップ体積が大きいと白血球のみならず他の成分、即ち赤血球や血小板の回収量が低下してしまうといった問題があった。特に血小板は粘着能が高いため、表面積の大きいフィルター材を用いると、その回収量低下は著しい。

発明の開示

このような状況下にあって、本発明者らは、血球による目詰まりが少なくても白血球残存率が 10^{-4} 以下と高い白血球除去能を有する白血球選択除去フィルター材を開発すべく鋭意研究を行なった。その結果、特定範囲の平均孔径および全細孔容積を有し、かつ孔径1～30 μm の細孔部分の容積が全細孔容積の90%以上である多孔質素子よりなる白血球除去フィルター材が、血球による目詰まりが起こり難くて白血球含有浮遊液の処理速度が減少せず、かつ高い白血球除

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

7

去性能を発揮することを知見した。又、更に、特定の全細孔表面積を有し、かつ孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ 或いは孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積の全細孔表面積に対する割合を或る値以上に高めることにより、上記の効果が特段に向上することを知見した。本発明は、これらの知見に基いて完成したものである。

本発明の 1 つの目的は、従来の白血球フィルター材に比較して、白血球漏出のない、かつ血球による目詰まりの起こりにくい新規な白血球選択除去フィルター材を提供すること、より詳しくは、単位体積あたりの白血球除去能を高め、白血球残存率が 10^{-4} 以下と高い白血球除去能を有し、かつ該白血球選択除去フィルター材を用いて血液を処理すると処理速度が減少しない、即ち、血球による目詰まりや圧力損失の増加が見られない単位体積当たりの白血球除去能を高めた新規な白血球選択除去フィルター材を提供することである。

本発明の他の 1 つの目的は、圧力損失を増大させず、小型で、しかも白血球含有浮遊液を処理すると処理された浮遊液中の白血球残存率が 10^{-4} 以下となる高い白血球除去性能を有する白血球選択除去フィルター装置を提供することである。

本発明の上記および他の諸目的、諸特徴および諸利益は、次に述べる詳細な説明と添付の請求範囲の記載から明らかになるう。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

8

即ち、本発明の基本的な態様によれば、平均孔径が $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の多孔質素子からなり、該多孔質素子の全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ (多孔質素子) であって、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 90% 以上である、白血球浮遊液から白血球を選択的に除去するための白血球選択除去フィルター材が提供される。

本発明の白血球選択除去フィルター材を構成する多孔質素子の更に好ましい態様を以下に列挙する。

(1) 多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であり、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 60% 以上である。

(2) 多孔質素子の孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 50% 以上である。

(3) 多孔質素子の孔径 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 38% 以下であり、孔径 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が全細孔容積の 6% 以下である。

(4) 多孔質素子の臨界湿潤表面張力が少なくとも 65 dyn/cm である。

(5) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-6} \sim 3 \text{ meq/m}^2$ の密度で塩基性官能基を有している；又は

(6) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-4} \sim 5 \text{ meq/m}^2$ の密度で酸性官能基を有している。

(7) 多孔質素子が $0.3 \sim 3.0 \mu\text{m}$ の平均繊維径を有す

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

9

る編布、織布および不織布より選ばれる繊維状多孔性媒体である；又は

(8) 多孔質素子が多孔膜および三次元網目状の連続孔を有するスポンジ状構造物から選ばれる多孔質体である。

(9) 処理される白血球浮遊液が白血球含有赤血球製剤の場合には、特に：

(9-1) 多孔質素子の平均孔径が $3 \sim 25 \mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ であって、このうち孔径 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 85% 以上である；

(9-2) 多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であって、該多孔質素子の孔径 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 50% 以上である；

(9-3) 多孔質素子の孔径 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 35% 以上である；

(9-4) 多孔質素子の孔径 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積が全細孔容積および全細孔表面積のそれぞれ 8% 以下および 40% 未満である；

(9-5) 多孔質素子の臨界湿潤表面張力が $65 \sim 90 \text{ dyn/cm}$ である；

(9-6) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-4} \sim 3 \text{ meq/m}^2$ の密度で塩基性官能基を有しているか、又は

(9-7) 多孔質素子が、その表面に、 5×10^{-2}

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

10

～5 meq / m²の密度で酸性官能基を有している；及び／又は、

(9-8) 多孔質素子が0.3～3.0 μmの平均繊維径を有する編布、織布および不織布より選ばれる繊維状多孔性媒体であるか、又は

(9-9) 多孔質素子が多孔膜および三次元網目状の連続孔を有するスポンジ状構造物より選ばれる多孔質体である。

(10) 処理される白血球浮遊液が白血球含有血小板製剤の場合には、特に：

(10-1) 多孔質素子の平均孔径が1～15 μm、孔径1～25 μmの細孔部分の容積が全細孔容積の85%以上である；

(10-2) 多孔質素子の全細孔表面積が0.50～5.70 m²/m³(多孔質素子)であって、孔径1～25 μmの細孔部分の表面積が全細孔表面積の58%以上である；

(10-3) 多孔質素子の孔径1～10 μmの細孔部分の表面積が全細孔表面積の55%以上である；

(10-4) 多孔質素子の孔径25 μmを超える細孔部分の容積および表面積が全細孔容積および全細孔表面積のそれぞれ10%以下および4%以下である；

(10-5) 多孔質素子の臨界湿潤表面張力が少くとも85 dyn/cmである；

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

11

(10-6) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-6} \sim 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ の密度で塩基性官能基を有しているか、又は

(10-7) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-4} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ の密度で酸性官能基を有している；及び／又は

(10-8) 多孔質素子が $0.3 \sim 3.0 \mu\text{m}$ の平均繊維径を有する編布、織布および不織布より選ばれる繊維状多孔性媒体であるか、又は

(10-9) 多孔質素子が多孔膜および三次元網目状の連続孔を有するスポンジ状構造物より選ばれる多孔質体である。

本発明において、多孔質素子の平均孔径、全細孔容積、特定孔径の細孔部分の容積、全細孔表面積、特定孔径の細孔部分の表面積の測定は、水銀圧入法（日本国、島津製作所、ポアサイザ 9320）で測定する。水銀が多孔質素子の細孔に全く入っていない状態を水銀圧入量 0%、多孔質素子の全ての細孔に入っている状態を水銀圧入量 100%とした時、水銀圧入量 50%に当たる点が本発明でいう平均孔径である。また、本発明における多孔質素子の容積および表面積は、それぞれ、水銀圧入法で測定した細孔容積（ cc/g または ml/g ）および比表面積（ m^2/g ）に多孔質素子のかさ密度（ g/cc または g/ml ）を乗じた値であり、実際に白血球選択除去フィルター装置内に多孔質素子を充填したとき

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

1 2

と実質的に同等の状態で測定されるものである。

本発明のフィルター材を構成する多孔質素子の平均孔径の測定は、多孔質素子を血液の流れ方向に対して垂直方向に切断し、断面全体に分散している細孔の中で、最も数の多い細孔について、細孔断面を円に換算して求めた直径として表すこともできる。即ち、フィルター材の任意の切断面に分散する細孔はいろいろな形で、その直径もさまざまであるが、個々の細孔をその細孔の断面積と同じ面積の円に換算し、その直径を横軸にとり、縦軸に細孔の数をとってグラフを描くと一般に正規分布に近い曲線となる。そして、その曲線のピークに当たる直径が本発明でいう平均孔径と定義する。また、上記の通り、平均孔径とは、任意の切断面各々につきその切断面上に分散する細孔の平均直径のことであり、どの切断面上の平均孔径も $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の範囲内になければならない。

なお、水銀ポロシメーターを用いる水銀圧入法による測定は、 $1 \sim 2650 \text{ psia}$ の圧力範囲で測定した値である。

本発明における多孔質素子表面の塩基性官能基または酸性官能基の密度は公知の測定技術、即ち赤外線吸収スペクトル法、核磁気共鳴スペクトル法、元素分析法等で定量することができるが、簡便な方法として滴定法や色素吸着法等が挙げられる。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

13

本発明のフィルター材の多孔質素子とは、血液を濾過し得る細孔を有し、本発明で規定する物性値を有するものであれば特に限定はなく、何れの形態を有する物も含まれるが、具体的には、多孔膜、三次元網目状連続細孔を有するスポンジ状構造物のような多孔質体や、綿状繊維塊、織布、編布、不織布等の繊維状多孔性媒体等が挙げられ、この中でも多孔質体は特に好ましいものである。

本発明のフィルター材に用いられる多孔質素子の素材としては、血球にダメージを与えにくいものであれば特に限定はなく各種のものをを用いることができ、有機高分子、無機高分子、金属等を挙げることができる。その中でも有機高分子は切断等の加工性に優れるため好ましい素材である。有機高分子としては、例えば、ポリウレタン、ポリアクリロニトリル、ポリビニルアルコール、ポリビニルアセタール、ポリエステル、ポリアミド、ポリスチレン、ポリスルホン、セルロース、セルロースアセテート、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリフッ化ビニル、ポリフッ化ビニリデン、ポリトリフルオロクロロビニル、フッ化ビニリデン-テトラフルオロエチレン共重合体、ポリエーテルスルホン、ポリ(メタ)アクリレート、ブタジエン-アクリロニトリルコポリマー、ポリエーテル-ポリアミドブロックコポリマー、エチレン-ビニルアルコールコポリマー等が挙げられるが、本発明の多孔質素子の素材は上記例示に限定されるものではない。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

14

さらに、本発明の白血球選択除去フィルター材として用いる多孔質素子の製造には公知の方法を用いることができる。具体的に説明すれば、多孔質素子の1例としての多孔質体の製造方法としては常圧発泡法、加圧発泡法、押出發泡法、射出發泡法等の発泡分解法、溶剤気散法、気体混入法、化学反応法、溶出法、焼結法等が挙げられ、熱プレス圧縮、適当な液体による膨潤等の2次加工を施し、本発明で規定する孔径分布になるように制御したものが好ましい。また、多孔質素子の他の1つの例としての繊維状媒体の製造方法としてはメルトブロー法やフラッシュ紡糸等の方法が挙げられ、さらに製造された繊維にプレス圧縮や熱収縮、適当な液体による処理等の2次加工を施し、本発明で規定する孔径分布になるように制御することができる。

本発明でいう白血球浮遊液とは白血球を含む液体であり、その例としては、全血、濃厚赤血球、洗浄赤血球、白血球除去赤血球、解凍赤血球濃厚液、解凍赤血球浮遊液の赤血球製剤、乏血小板血漿、多血小板血漿、新鮮凍結血漿、新鮮液状血漿、クリオプレシピテートの血漿性剤、濃厚血小板、パフイーコート、パフイーコート除去血等の白血球を含む血液製剤を挙げることができるが、本発明の白血球浮遊液は上記例示のものに限定されるものではない。。

血液製剤に含まれている血球成分には赤血球、血小板ならびに顆粒球、単球およびリンパ球を総称する白血球があり、

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

15

血小板は2～4 μm 程度、赤血球は4～9 μm 程度、リンパ球は6～12 μm 程度、顆粒球は10～15 μm 程度、単球は13～20 μm 程度の粒子径を有する。更に各血球成分は赤血球に代表されるような変形能を多かれ少なかれ有しており、また、高分子材料に対する粘着性は単球>顆粒球>血小板>リンパ球>赤血球の順であると考えられている。

本発明者等はそのような各血球成分の粒子径、粘着性に着目し、鋭意検討した結果、白血球除去に有効な細孔孔径は1～30 μm であることを見だし、本発明の白血球選択除去フィルター材を開発するに至ったものである。即ち、単球、顆粒球は比較的大きな粒子径を有し、かつ粘着能が高いため、高分子材料との接触頻度が幾分少ない孔径部分でも容易に除去することができ、30 μm 程度の孔径までが該白血球の除去に有効であったこと、また、リンパ球は単球、顆粒球に比較すると粒子径が小さく、かつ粘着能も低いため、リンパ球の除去は粘着による機構以外に粒子径によるふるい分けも考慮する必要があり、そのため、リンパ球除去に有効な最小孔径はリンパ球の変形を考慮すると、1 μm 程度の孔径までが有効であることを見いだしたのである。

したがって、血液製剤から白血球を効率よく除去するためには孔径1～30 μm の細孔部分に注目すべきであり、本発明の白血球選択除去フィルター材は平均孔径が1～25 μm であり、かつ白血球除去に有効な孔径1～30 μm の細孔部

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

16

分の容積の割合が高い点に特徴を有している。

即ち、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子において、全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ （多孔質素子）であり、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が90%以上であることが必要である。

また、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子においては、全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であり、このうち $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の60%以上であることが好ましい。表面積も細孔容積と同様に白血球選択除去フィルター材を規定する重要な物性値であり、白血球除去に有効な $1 \sim 30 \mu\text{m}$ 細孔の表面積が大きく、かつ割合が高い白血球選択除去フィルター材は優れた白血球除去能を有するものである。

また、白血球漏出を起させないためには、多孔質素子の孔径分布のせまい方が好ましく、分布の標準偏差を平均孔径で除した変動係数が10%以下、より望ましくは5%以下であることが好ましい。

上記した通り、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子においては、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が90%以上である。また $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が6%以下であることが好ましい。より望ましくは全細孔容積が $0.50 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ 、最も望ましくは $0.60 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ であることが好ましく、このうち孔径

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

17

1 ~ 30 μm 細孔部分の容積が 95 % 以上、最も好ましくは 98 % 以上であることがより好ましい。また、孔径 30 μm を超える細孔部分の容積は 4 % 以下、最も好ましくは 2 % 以下であることがより好ましい。全細孔容積が 0.40 ml / ml 未満であると血液が通過するための細孔の空間容積が不足し、血球による目詰まりが生じ、0.95 ml / ml を超えると多孔質素子の強度が低下し、もはや濾材としての機能を果たさなくなるため不適である。また、孔径 1 ~ 30 μm 、細孔部分の容積が 90 % 未満であるような多孔質素子は、白血球除去に有効な細孔量が低下し、白血球漏出または目詰まりが起こるため不適である。30 μm を超える細孔部分の容積が 6 % を超えると白血球漏出の危険性が高まり、効率よく白血球を除去できなくなるため好ましくない。

また、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子は全細孔表面積が 0.50 ~ 5.70 m^2 / ml (多孔質素子) であり、このうち孔径 1 ~ 30 μm の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 60 % 以上、孔径 1 ~ 10 μm の細孔部分の表面積が 50 % 以上、孔径 1 μm 未満の細孔部分の表面積が 38 % 以下であることが好ましい。望ましくは全細孔表面積が 0.70 ~ 5.70 m^2 / ml 、更に望ましくは 0.80 ~ 5.70 m^2 / ml 、最も望ましくは 0.90 ~ 5.70 m^2 / ml であることが好ましく、このうち、1 ~ 30 μm の細孔部分の表面積が 65 % 以上、最も望ましくは 70 % 以上で

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

18

あることがより好ましい。1～10 μm の細孔部分の表面積は多孔質素子の全表面積の55%以上、更に60%以上であることがより好ましい。また、1 μm 未満の細孔部分の表面積が30%以下、最も望ましくは28%以下であることがより好ましい。全細孔表面積が0.50 m^2/ml 以下であると白血球が粘着する表面積が少ないため、白血球漏出が起こり、5.70 m^2/ml を超えると血液処理に要する時間が長くなったり、白血球のみならず赤血球や血小板も除去され易くなり、目詰まりによる圧力損失の増加が生ずるため好ましくない。また、1～30 μm の細孔部分の表面積が60%未満であるような多孔質素子は白血球除去に有効な細孔の表面積が低下し、白血球漏出または目詰まりが起こるため好ましくない。1～10 μm の細孔部分の表面積が血液下流側の多孔質素子の全表面積の50%未満であると、リンパ球漏出または目詰りを誘発するため好ましくない。また、1 μm 未満の細孔部分は血球が通過できない細孔であるため、1 μm 未満の細孔部分の表面積が高ければ、濾過されずに多孔質素子の表面に集積する血球が増加することになる。従って、白血球以外の血球、即ち赤血球や血小板を回収する場合に、1 μm 未満の細孔部分の表面積が38%を超えると赤血球や血小板の回収量が低下するため好ましくない。更に、本発明の白血球選択除去フィルター材の平均孔径は1～25 μm 、より望ましくは3～20 μm 、最も望ましくは5～18 μm である

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

19

ことが好ましい。平均孔径は、多孔質素子の孔径分布を反映し、平均孔径が $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満であると目詰まりが起こり、 $25\text{ }\mu\text{m}$ を超えると白血球漏出が顕著となるため不適である。

また、本発明の白血球選択除去フィルター材に用いられる多孔質素子の臨界湿潤表面張力(CWST)は、少なくとも 65 dyn/cm であることが好ましい。

CWSTとは多孔質素子の表面特性に関連し、多孔質素子のぬれ特性を規定するのに使用される物性値である。即ち、液体を多孔質素子の表面と接触させ、わずかに圧力を加えた場合、多孔質素子への湿潤が起こるか否かを規定する表面特性値であり、ある液体の表面張力より大きなCWST値を有する多孔質素子は、その液体による湿潤が起こることになる。本発明は血液製剤中に混入している白血球を除去するフィルター材に関するものであり、実際、血液製剤から白血球を除去するためには、血液と多孔質素子が接触した時に、血液で多孔質素子が自然湿潤する条件が好ましい。そのため、本発明で用いる多孔質素子の表面は濾過する血液の表面張力と同等もしくはそれ以上のCWST値を有するものが好ましい。実際、血漿及び赤血球の表面張力はそれぞれ 73 dyn/cm 、 64 dyn/cm と測定されている（血球及びタンパク質の表面張力の測定、エイ、ダブル、ニューマン他、ニューヨークアカデミーオブサイエンス 1983年、276ページ）ため、 65 dyn/cm 未満の表面を有する多孔質

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

20

素子ではかなりの圧力を負荷しなければ血液の濾過を行うことができなくなるため好ましくない。また、C W S T 値が 6 5 d y n / c m 未満である多孔質素子であっても、グラフト重合、コーティング、薬品処理、プラズマ処理等の表面改質技術を用いて、多孔質素子の表面に親水性のモノマーやポリマーを導入し、C W S T 値を 6 5 d y n / c m 以上に表面改質した場合も本発明でいう多孔質素子に含まれるものである。

なお、本発明における C W S T とは、以下の方法に従って求められる値をいう。即ち、2 ~ 4 d y n / c m づつ表面張力が変化するように水酸化ナトリウム、塩化カルシウム、硝酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、酢酸及びエタノールの濃度の異なる水溶液を調製する。各水溶液の表面張力 (d y n / c m) は、水酸化ナトリウム水溶液で 9 4 ~ 1 1 5 、塩化カルシウム水溶液で 9 0 ~ 9 4 、硝酸ナトリウム水溶液で 7 5 ~ 8 7 、純粋な水で 7 2 . 4 、酢酸水溶液で 3 8 ~ 6 9 、エタノール水溶液で 2 2 ~ 3 5 のものが得られる (「化学便覧 基礎編 I I 」改訂 2 版、日本化学会編、丸善、1 9 7 5 年、1 6 4 ページ)。このようにして得た表面張力が 2 ~ 4 d y n / c m 異なる水溶液を表面張力が低いものから順番に多孔質素子上に 1 0 滴づつ乗せ 1 0 分間放置する。1 0 分間放置後、1 0 滴中 9 滴以上が多孔質素子に吸収された場合に湿潤した状態であると定義し、吸収が 1 0 滴中 9 滴未満である場

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

21

合に非湿潤状態であると定義する。このようにして多孔質素子上に表面張力が小さい液体から順次測定していくと湿潤状態と非湿潤状態が出現する。この時湿潤状態を観察した液体の表面張力の値と非湿潤状態を観察した液体の表面張力の値の平均値をその多孔質素子のC W S T値と定義する。例えば、 64 dy n / c m の表面張力を有する液体で湿潤し、 66 dy n / c m の表面張力を有する液体で非湿潤であった場合、その多孔質素子のC W S T値は 65 dy n / c m となる。

更に、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子の表面は、グラフト重合、コーティング、アルカリ、酸等の薬品処理、プラズマ処理等で改質されていることが好ましい。中でもグラフト重合やコーティングは高分子材料表面を改質する手法として古くから知られている技術であり、高分子表面のぬれ特性や電気的作用等を任意のものとすることができる優れた表面改質技術である。特に、生体細胞と高分子材料表面との界面反応において、その高分子材料表面の化学的構造が大きく影響すると考えられているため、白血球選択除去フィルター材の設計においては白血球選択除去フィルター材の物理的構造のみでなく表面化学構造にも注目すべきである。即ち白血球捕捉材に用いられる多孔質素子表面を好ましい構造に改質するための簡便で優れた改質法の好ましい例としてグラフト重合やコーティングが挙げられるのである。

白血球選択除去フィルター材に用いられる多孔質素子表面

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

22

の改質の目的は、第1に白血球がよく粘着する表面とすること、第2に血液濾過を円滑に行えるようにすることである。このような目的のためには種々の化学種、即ちヒドロキシル基、ポリエチレンオキサイド鎖等の親水性の官能基を有する化学種や荷電性の化学種のフィルター材表面への導入が有効である。

更に、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子は、その表面に、塩基性官能基が $10^{-5} \sim 3 \text{ meq} / \text{m}^2$ 、より望ましくは $10^{-5} \sim 1 \text{ meq} / \text{m}^2$ 、または酸性官能基が $10^{-4} \sim 5 \text{ meq} / \text{m}^2$ 、より望ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 1 \text{ meq} / \text{m}^2$ の密度で含有されていることが好ましい。白血球の高分子材料に対する粘着性は高分子材料の表面性状にも影響され、一般に白血球に限らず血球細胞は負の荷電を細胞表面に有している。そのため、白血球を除去するためには正の荷電を表面に有している高分子材料が一般に有効であることが知られている（WO/05812号）。また、それとは逆に負の荷電を有する表面も白血球除去に有効である。本来負の荷電を有する細胞と、同じく負の荷電を有する酸性官能基との間には静電気的な反発力が働き、細胞の粘着量は減少してもよさそうであるが、恐らくは細胞が負の荷電を有する材料表面に粘着するよりも早く、血漿中に含まれるある種のタンパク質が粘着し、このタンパク質の仲介によって白血球の粘着が促進されるのではないかと思われる。しかし、多

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

23

孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-5} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満である、または酸性官能基の密度が $10^{-4} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満であると静電的な作用が不十分となりやすく、また多孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $3 \text{ meq} / \text{m}^2$ を超える、または酸性官能基の密度が $5 \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えると白血球のみならず他の成分、即ち赤血球や血小板にも影響を及ぼすようになり、溶血等の現象が起こる傾向にあるため好ましくない。

塩基性官能基または酸性官能基を表面に有さない多孔質素子であっても、そのような多孔質素子の表面に塩基性官能基または酸性官能基を有するモノマーやポリマーをグラフト重合またはコーティングで導入し、多孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度を $10^{-5} \sim 3 \text{ meq} / \text{m}^2$ に、または酸性官能基の密度を $10^{-4} \sim 5 \text{ meq} / \text{m}^2$ の範囲内になるように表面改質を施した多孔質素子も本発明でいう多孔質素子に含まれるものである。

本発明に用いることのできる塩基性官能基としては、第一級アミノ基、第二級アミノ基、第三級アミノ基、四級アンモニウム基、およびピリジル基、イミダゾイル基などの含窒素芳香環基等が挙げられ、これらの官能基を有するモノマーとしては、アリルアミン、ジメチルアミノエチル（メタ）アクリレート、ジエチルアミノエチル（メタ）アクリレート、ジメチルアミノプロピル（メタ）アクリレート、3-ジメチル

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

24

アミノ-2-ヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート等の(メタ)アクリル酸誘導体、p-ジメチルアミノメチルスチレン、p-ジエチルアミノエチルスチレン等のスチレン誘導体、2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、4-ビニルイミダゾール等の含窒素芳香族化合物のビニル誘導体、および上記のビニル化合物をハロゲン化アルキル等によって四級アンモニウム塩とした誘導体等を挙げることができる。しかし、本発明の塩基性官能基を有する化学種は、上記に例示した化学種に限定されるものではない。

また、本発明に用いることのできる酸性官能基としては、カルボキシル基、リン酸基、スルホン酸基、フェノール基等が挙げられ、これらの官能基を有するモノマーとしては、アクリル酸、メタアクリル酸、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸、モノ(2-メタクリロイルオキシエチル)アシッドフォスフェート、2-スルホエチルメタクリレート等のアクリル酸もしくはメタクリル酸の誘導体や、p-スチレンスルホン酸ナトリウム等のスチレン誘導体、ビニルフェノール等のフェノール誘導体、アリルスルホン酸ナトリウム等のアリル化合物等の各種のビニルモノマー、アセチレン誘導体、トリオキサン誘導体等を挙げることができる。しかし、本発明の酸性官能基を有する化学種は、上記に例示した化学種に限定されるものではない。

また、本発明の白血球選択除去フィルター材の多孔質素子

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

25

として織布、編布、不織布等の繊維状多孔性媒体を用いる場合、該繊維状多孔性媒体の平均繊維径は、 $0.3 \sim 3.0 \mu\text{m}$ 、より望ましくは $0.5 \sim 2.5 \mu\text{m}$ あることが望ましい。

繊維状多孔性媒体を濾材とした白血球選択除去フィルター材において、繊維径が $3.0 \mu\text{m}$ を超えると白血球除去能が減少するために好ましくない。また、平均繊維径が $0.3 \mu\text{m}$ 未満のものは、もはや安定して製造することが難しく、血液の粘性抵抗も高くなりすぎるために好ましくない。なお、本発明における平均繊維径とは、以下の方法に従って求められる値をいう。即ち、多孔質素子を構成する一枚または複数枚の繊維体から実質的に均一と認められる部分をサンプリングし、走査電子顕微鏡などを用いて、写真に撮る。サンプリングに際しては、繊維体の有効濾過断面積部分を、1辺が 0.5 cm の正方形によって区分し、その中から6ヶ所をランダムサンプリングする。ランダムサンプリングするには、例えば、上記各区分に番地を指定した後、乱数表を使うなどの方法で、必要ヶ所の区分を選べばよい。サンプリングした各区分について中央部分及びその近傍の箇所の写真を撮っていき、その写真に撮られた繊維の合計本数が100本を超えるまで写真を撮る。ここで直径とは、繊維軸に対して直角方向の繊維の幅をいう。測定した全ての繊維の直径の和を、繊維の数で割った値を平均繊維径とする。但し、複数の繊維が重なっており、他の繊維の陰になってその幅が測定できない場

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

26

合、また複数の繊維が溶融するなどして、太い繊維になっている場合、更に著しく直径の異なる繊維が混在している場合、等々の場合には、これらのデータは削除する。

一般に、血液製剤とは全血（WB）、濃厚赤血球（CRC）等の赤血球を多量に含んだ赤血球製剤と多血小板血漿（PRP）、濃厚血小板（PC）等の血小板を多量に含んだ血小板製剤に大別される。前述したように各血球成分は異なる粒子径及び粘着能を有し、血液製剤によって血液粘性等も異なるものである。従って、濾過しようとする血液製剤が異なれば、用いる白血球選択除去フィルター材も物理構造的、化学構造的に多少異なるべきものであり、以下に赤血球製剤用の白血球選択除去フィルター材と血小板製剤用の白血球選択除去フィルター材について述べる。

WBやCRCの赤血球製剤とは血球成分の含量が約40～70%の比較的血液粘性の高い製剤であり、混入している白血球も粘着能が高く、粒子径の大きい顆粒球と単球が約60%を占め、粘着能が低く、粒子径の小さいリンパ球が40%程度である。このような赤血球製剤から赤血球は通過させ、かつ白血球は除去するための白血球選択除去フィルター材としては、平均孔径が3～25 μm 、より望ましくは5～20 μm 、全細孔容積が0.40～0.95 ml/ml 、このうち2～30 μm の細孔部分の容積が全細孔容積の85%以上であり、より望ましくは90%以上、更に望ましくは96%

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

27

以上であることが好ましい。全表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{m}^3$ 、このうち $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全表面積の 50% 以上、より望ましくは 60% 以上であり、 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全表面積の 35% 以上、より好ましくは 45% 以上である多孔質素子が白血球選択除去フィルター材として好適な物理的構造である。更に、赤血球製剤中の赤血球は変形能が高いため、比較的小さい細孔部分でも変形しながら通過することが可能であるが、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔を通過する時には、赤血球の通過抵抗に起因する圧力損失の増加が懸念される。そのため、赤血球製剤から白血球を除去する白血球選択除去フィルター材としては、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積が 8% 以下、より望ましくは 5% 以下、表面積が 40% 未満、より望ましくは 30% 未満である多孔質素子が好適である。平均孔径が $3 \mu\text{m}$ 未満であると、血球目詰まりが生じ易くかつ赤血球の通過抵抗が高まるため、圧力損失の増大が懸念され、 $25 \mu\text{m}$ を超えると、白血球漏出の危険性が高まるため好ましくない。また、 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が 85% 未満または表面積が 50% 未満であると、目詰まりなく、かつ白血球残存率が 10^{-4} 以下になるような高効率で白血球を除去することが難しくなるため好ましくない。また、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積が 8% を超えたり、または表面積が 40% 以上であると、目詰まりや圧力損失の増加による血液処理速度が低下し、かつ赤血球の通過

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

28

率が減少するため好ましくない。

更に、赤血球製剤から白血球を捕捉するフィルター材の C W S T 値は $65 \sim 90 \text{ dyn/cm}$ 、多孔質素子の表面に塩基性官能基を導入する場合には、多孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-4} \sim 3 \text{ meq/m}^2$ 、望ましくは $10^{-3} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ 、より望ましくは $10^{-2} \sim 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ である方が好ましく、多孔質素子の表面に酸性官能基を導入する場合には、多孔質素子の表面積あたりの酸性官能基の密度が $5 \times 10^{-2} \sim 5 \text{ meq/m}^2$ 、望ましくは $8 \times 10^{-2} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ 、より望ましくは $10^{-1} \sim 5 \times 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ であることが好ましい。通常の合成高分子材料の C W S T 値は 55 dyn/cm 以下のものがほとんどであるため、血液の合成高分子材料への自然湿潤は起こりにくい。しかし、C W S T 値をグラフト重合やコーティング等で表面改質し、C W S T 値を $65 \sim 90 \text{ dyn/cm}$ に増加させた多孔質素子や親水性の官能基を有する高分子材料から合成され、表面改質を施さなくとも C W S T 値が上記の範囲内に入る多孔質素子を用いると、血液による多孔質素子への湿潤が容易になるため、血液濾過速度の低下は目詰まりがないかぎり起こらないのである。また、多孔質素子表面への塩基性官能基または酸性官能基の導入は、白血球細胞と多孔質素子表面での静電的相互作用により白血球の除去能が向上するため好ましい。

P R P や P C の血小板製剤は血球成分の含量が低く、ほと

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

29

んどが水であるため比較的血液粘性の低い製剤であり、混入している白血球も粘着能が低く、粒子径の小さいリンパ球が約90%を占めるという特徴がある。このような血小板製剤から血小板は通過させ、かつ白血球は除去するための白血球選択除去フィルター材としては、平均孔径が $1 \sim 15 \mu\text{m}$ 、より望ましくは $2 \sim 12 \mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ （多孔質素子）、このうち $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の85%以上、より望ましくは90%以上であることが好ましく、全表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、このうち孔径 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全表面積の58%以上、より望ましくは65%以上であり、孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が55%以上である多孔質素子が白血球選択除去フィルター材として好敵な物理的構造である。更に、血小板製剤中の白血球は粘着能が低く粒子径の小さいリンパ球が大部分であるため、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔は実質的にリンパ球除去に有効ではなくなる。そのため、血小板製剤から白血球を除去する白血球選択除去フィルター材としては、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が10%以下、より望ましくは5%以下、表面積が4%以下、より望ましくは2%以下である多孔質素子が好敵である。平均孔径が $1 \mu\text{m}$ 未満であると、血球目詰まりが生じ易くかつ粘着能の高い血小板をも粘着除去される恐れが高まり、 $15 \mu\text{m}$ を超えると粒子の小さいリンパ球が漏出する危険性が高ま

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

30

るため好ましくない。また、 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が85%未満または表面積が58%未満であると、目詰まりなく、かつ白血球残存率が 10^{-4} 以下になるような高効率で白血球を除去することが難しくなるため好ましくない。孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全表面積の55%未満であるとリンパ球漏出が生じやすく、また、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の表面積が4%を超えるとリンパ球漏出が起こりやすい。更に、血小板製剤から白血球を除去するフィルター材のCWS T値は 85 dyn/cm 以上、より望ましくは 95 dyn/cm 以上、多孔質素子の表面に塩基性官能基を導入する場合には、多孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-6} \sim 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ 、より望ましくは $10^{-5} \sim 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ 、より望ましくは $10^{-4} \sim 10^{-2} \text{ meq/m}^2$ 、である方が好ましく、多孔質素子の表面に酸性官能基を導入する場合には、多孔質素子の表面積あたりの酸性官能基の密度が $10^{-4} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ 、望ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ 、より望ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 10^{-2} \text{ meq/m}^2$ であることが好ましい。グラフト重合やコーティング等で多孔質素子の表面を改質し、CWS T値を 85 dyn/cm 以上に増加させた多孔質素子や親水性の官能基を有する高分子材料から合成され、表面改質を施さなくともCWS T値が上記の範囲内に入る多孔質素子を用いて血小板製剤を処理すると血液による多孔質素子への湿潤が容易になるほか

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

31

りか、血小板の粘着を抑制する効果も付与することができるため好適である。また、多孔質素子表面への塩基性官能基または酸性官能基の導入は、白血球細胞と多孔質素子表面での静電的相互作用により白血球の除去能が向上し、また血小板回収量も向上しうるため好ましい。但し、多孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-6} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満、または酸性官能基の密度が $10^{-4} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満であると白血球除去能が不十分になる恐れがあり、また、塩基性官能基の密度が $10^{-1} \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えるか、または酸性官能基の密度が $1 \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えると、白血球のみならず血小板も除去されてしまうため好ましくない。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

32

本発明の他の態様によれば、平均孔径が $1 \sim 2.5 \mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ （主多孔質素子）であり、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の90%以上である主多孔質素子を包含する多孔質構造体を、白血球浮遊液の入口と出口を有する容器内に充填してなる白血球浮遊液から白血球を選択除去するための白血球選択除去フィルター装置が提供される。

本発明の白血球選択除去フィルター装置の更に好ましい実施態様を次に列挙する。

- (1) 主多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であり、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の60%以上である；
- (2) 主多孔質素子の孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の50%以上である；
- (3) 該多孔質構造体が、主多孔質素子の白血球浮遊液上流側に主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有し多孔質構造体の平均孔径が $1 \sim 300 \mu\text{m}$ になるように構成されており、浮遊液が流される方向に対して多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に 0.5 mm 以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している；

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

3 3

(4) 多孔質構造体上流側の平均孔径が $10 \sim 300 \mu\text{m}$ 、
多孔質構造体下流側の平均孔径が $1 \sim 25 \mu\text{m}$ であり、かつ、
上流側の平均孔径が下流側平均孔径の $2 \sim 100$ 倍である；
及び／又は

(5) 上記多孔質構造体が、白血球浮遊液の白血球の 60%
以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材と、第2ステー
ジの白血球捕捉材からなり、第2ステージの白血球捕捉材は
上記の主多孔質素子であって、第1ステージの白血球捕捉材
が第2ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されて
いる。

(6) 処理される白血球浮遊液が白血球含有赤血球製剤の場合
合には、特に：

(6-1) 上記の主多孔質素子の平均孔径が $3 \sim 25 \mu\text{m}$ 、孔径 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 85% 以上であり、孔径 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ および孔径 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積のそれぞれ 50% 以上および 35% 以上である；

(6-2) 該多孔質構造体が、該主多孔質素子の赤血
球製剤上流側に該主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔
径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有し多孔質構造体
の平均孔径が $3 \sim 300 \mu\text{m}$ になるように構成されており、
赤血球製剤が流される方向に対して多孔質構造体の上流側及
び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に 0.5 mm

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

34

以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している；

(6-3) 多孔質構造体上流側の平均孔径が $15 \sim 300 \mu\text{m}$ 、多孔質構造体下流側の平均孔径が $3 \sim 25 \mu\text{m}$ であり、かつ、上流側平均孔径が下流側平均孔径の $3 \sim 100$ 倍である；及び／又は、

(6-4) 多孔質構造体が赤血球製剤の白血球の 60% 以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材と、第2ステージの白血球捕捉材からなり、第2ステージの白血球捕捉材は上記の主多孔質素子であって、第1ステージの白血球捕捉材が第2ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されている。

(7) 処理される白血球浮遊液が白血球含有血小板製剤の場合には、特に：

(7-1) 上記の主多孔質素子の平均孔径が $1 \sim 15 \mu\text{m}$ であり、孔径 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 85% 以上であって、孔径 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ および孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積のそれぞれ 58% 以上および 55% 以上である；

(7-2) 該多孔質構造体が、該主多孔質素子の血小板製剤上流側に該主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有し多孔質構造体

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

35

の平均孔径が $1 \sim 200 \mu\text{m}$ になるように構成されており、白血球製剤が流される方向に対して多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に 0.5 mm 以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している；

(7-3) 多孔質構造体上流側の平均孔径が $10 \sim 200 \mu\text{m}$ 、多孔質構造体下流側の平均孔径が $1 \sim 15 \mu\text{m}$ であり、かつ、上流側平均孔径が下流側平均孔径の $2 \sim 60$ 倍である；

(7-4) 多孔質構造体が血小板製剤の白血球の 60% 以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材と、第2ステージの白血球捕捉材からなり、第2ステージの白血球捕捉材は上記の主多孔質素子であって、第1ステージの白血球捕捉材が第2ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されている；及び／又は、

(7-5) 処理される血小板製剤に含まれる血小板 2×10^{10} 個当たりの多孔質構造体の全表面積が $0.01 \sim 0.08 \text{ m}^2$ となるように構成されている。

本発明の白血球選択除去フィルター装置に充填する多孔質構造体の主多孔質素子は、上記の本発明の基本的な態様により提供される白血球選択除去フィルター材の多孔質素子に相当するものであって、上記の主多孔質素子の諸特性の臨界性

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

36

及びその効果は、白血球選択除去フィルター材の多孔質素子について前述した通りである。

本発明の白血球選択除去フィルターの更に好ましい態様においては、上記したように、該多孔質構造体が、主多孔質素子の白血球浮遊液上流側に主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有していて多孔質構造体の平均孔径が1～300 μ mになるように構成されており、浮遊液が流される方向に対して多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に0.5mm以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している。

本発明の白血球選択除去フィルター装置において、多孔質構造体の平均孔径の実質的な連続的または段階的減少とは、血液の上流側から下流側に向かって多孔質構造体の孔径が徐々に小さくなる場合を連続的減少といい、平均孔径がほぼ等しいある厚み区間が存在し、血液上流側から下流側に向かって段階的に減少する場合を段階的減少という。また、ここで実質的とは、多孔質構造体の厚み方向への平均孔径の減少が厳密な意味で必ずしも連続的又は段階的でなくとも概ねの傾向が減少方向であれば良いという意味である。また、多孔質構造体の厚み方向に対して3点以上、好ましくは5点以上の

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

37

任意の部分の平均孔径を測定し、縦軸に平均孔径、横軸に血液上流側の多孔質構造体表面からの厚みをとってグラフを描くと、平均孔径が直線的に減少する場合、曲線的に減少する場合、段階的に減少する場合等の減少パターンが得られるが、本発明における平均孔径の減少はそれらいずれの場合も含むものである。

上記の平均孔径とは、白血球除去フィルター材の多孔質素子の場合と同様に、多孔質構造体を血液の流れ方向に対して垂直方向に切断し、断面全体に分散している細孔の中で、最も数の多い細孔について、細孔断面を円に換算して求めた直径を表すものである。即ち、フィルター材の任意の切断面に分散する細孔はいろいろな形で、その直径もさまざまであるが、個々の細孔をその細孔の断面積と同じ面積の円に換算し、その直径を横軸にとり、縦軸に細孔の数をとってグラフを描くと一般に正規分布に近い曲線となる。そして、その曲線のピークに当たる直径が多孔質構造体の平均孔径と定義する。また、上記の通り、多孔質構造体の平均孔径とは、任意の切断面各々につきその切断面上に分散する細孔の平均直径のことであり、どの切断面上の平均孔径も $1 \sim 300 \mu\text{m}$ の範囲内になければならない。なお、多孔質構造体の平均孔径の測定は、上記の切断面を含む厚さ 0.5 mm 以下のサンプルについて、主多孔質素子の場合と同様の方法を用いて、水銀圧入法（日本国、島津製作所、ポアサイザ 9320 を用いる）

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

38

でも測定できる。

本発明の白血球選択除去フィルター装置において、多孔質構造体の血液上流側部分および下流側部分とは、多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面からフィルターの厚み方向に対して0.5mm以下の部分と定義される（以下、単に「上流側」及び「下流側」と屢々いう）。また、本発明における多孔質構造体の表面積は、水銀圧入法で測定した比表面積（ m^2/g ）に多孔質構造体のかさ密度（ g/cm^3 または g/ml ）を乗じた値であり、実際に白血球選択除去フィルター装置内に多孔質構造体を充填したときと実質的に同等の状態で測定されるものである。

なお、水銀ポロシメーターを用いる水銀圧入法による測定は、多孔質素子の場合と同様に、1～2650psiaの圧力範囲で測定した値である。

また、本発明の白血球選択除去フィルター装置においては、上記多孔質構造体が、白血球浮遊液の白血球の60%以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材と、第2ステージの白血球捕捉材からなり、第2ステージの白血球捕捉材は上記の主多孔質素子であって、第1ステージの白血球捕捉材が第2ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されていることが好ましい。

上記したような本発明の白血球選択除去フィルター装置の好ましい態様について次に説明する。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

39

上記したように、本発明の白血球選択除去フィルター装置においては、該多孔質構造体が、主多孔質素子の白血球浮遊液上流側に主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有し多孔質構造体の平均孔径が1～300 μ mになるように構成されており、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している。その具体的な構成の好ましい例として、該主多孔質素子の上流側に血液製剤中に含まれるゲルや微小凝集物を捕捉するための繊維体またはスポンジ状構造物を積層することが挙げられる。また、上記のゲルや微小凝集物を捕捉するための捕捉材と白血球選択除去フィルター材としての該主多孔質素子との間に、血液製剤中に混入している全白血球の60%以上を捕捉するような第1ステージの白血球捕捉材として繊維体またはスポンジ状構造を積層することが好ましい。

血液製剤には白血球、赤血球、血小板などの血球成分や血漿成分以外にゲル、微小凝集物（マイクロアグリゲート：MA）が含まれる場合が多々ある。ゲルが一般に200 μ m以下の大きさ、MAは一般に50 μ m以下の大きさであり、血液製剤の保存日数が長くなればなるほどその数が増える傾向にある。このようなゲル、MAが多量に含まれている保存血から白血球を除去する場合には、ゲル及びMAによる目詰まりを考慮する必要がある、上記の繊維体またはスポンジ状構

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

40

造物を白血球選択除去フィルター材としての該主多孔質素子の上流側に配置すると、ゲルやMAによる目詰まりを効果的に防止し得る白血球選択除去フィルター装置を提供することができる。用いるゲル用の捕捉材としては平均繊維径が $8 \sim 45 \mu\text{m}$ 、好ましくは $10 \sim 32 \mu\text{m}$ 、より好ましくは $15 \sim 28 \mu\text{m}$ の繊維体や平均孔径が $20 \sim 200 \mu\text{m}$ 、好ましくは $25 \sim 180 \mu\text{m}$ のスポンジ状構造物が好ましい例として挙げられる。またMA捕捉材としては、 $3 \mu\text{m}$ 以上の平均繊維径、好ましくは $3 \sim 10 \mu\text{m}$ の平均繊維径を有する織布、編布、不織布などの繊維体や、平均孔径が $10 \mu\text{m}$ 以上、好ましくは $10 \sim 50 \mu\text{m}$ の平均孔径を有するスポンジ構造物が挙げられる。

更に、ゲル及び／又はMA捕捉材と白血球選択除去フィルター材としての該主多孔質素子との間に挿入する第1ステージの白血球捕捉材としては、平均繊維径が $0.8 \sim 3 \mu\text{m}$ の織布、編布、不織布などの繊維体や平均孔径が $6 \sim 30 \mu\text{m}$ のスポンジ状構造物が挙げられる。第1ステージの白血球捕捉材は、全細孔容積及び全細孔表面積がそれぞれ 0.20 ml/ml 以上、 $0.25 \text{ m}^2/\text{ml}$ 以上であり、白血球捕捉に有効な $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 35% 以上、 40% 以上有するものであることが好ましい。

また、ゲル捕捉用の繊維体としてはニードル繊維体が好適である。ニードル繊維体とは血液の流れ方向への繊維の配向

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

41

性を高めた繊維体のことであり、血液の流れ方向に垂直な方向への繊維配向性が高い、すなわち平面平行繊維体とは構造が異なる物である。このニードル繊維体を有する繊維体をゲル捕捉材として用いると、ゲルはニードル繊維体の表面だけでなく内部までも侵入できるようになる。そのためゲル捕捉材表面のみでゲルを捕捉する平面平行繊維体よりも単位体積当たりのゲル捕捉能が向上し、使用する捕捉材の量を少なくすることができ、小型でホールドアップ体積の小さいフィルター装置を提供することが可能となる。

また、白血球の除去能を高め、かつ目詰まりのない白血球選択除去フィルター装置とするためには、充填する多孔質構造体の表面積が血液上流側から下流側に向かって指数関数的に大きくなることが好ましい。これは、次のような理由による。血液上流側と下流側の多孔質構造体の表面積が同等であると、血液上流側に配置したフィルター材の表面では無数の白血球が粘着しているのに対し、血液下流側に配置したフィルター材の表面ではほとんど白血球の粘着が見られず、目詰まりは上流側で起きやすい。即ち、フィルター材を血液が通過するとき、混入している白血球の濃度がフィルター材の厚みに対して指数関数的に減少している。厚み方向の白血球の粘着を一樣として、白血球による目詰まりができるだけ起きないようにするには、多孔質構造体の表面積を上流側から下流側に向かって指数関数的に増加させることが効果的で好ま

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

4 2

しいわけである。

なお、本発明における白血球選択除去フィルター装置内に充填するフィルター材の有効濾過断面積は $1.0 \sim 100 \text{ cm}^2$ 、厚みは $0.05 \sim 100 \text{ mm}$ の範囲内にあることが好ましい。

本発明の白血球選択除去フィルター装置において、多孔質構造体の主多孔質素子の上流側に、血液製剤中に混入している全白血球の60%以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材、及びゲル、MAを捕捉し、ゲルやMAによる目詰まりを防止する捕捉材を充填したフィルター装置（そこでは、主多孔質素子が第2ステージの白血球捕捉材となる）を用いると、ゲルやMAが多量に含まれている保存血液の処理速度が低下することなく、かつ圧力損失が増加することなく白血球を高収率で除去することが可能となる。

また、本発明で規定した物性値を有する主多孔質素子が充填されていれば、その他に如何なるものが充填されていても本発明でいう白血球選択除去フィルター装置に含まれるものである。本発明の白血球選択除去フィルター材としての主多孔質素子をフィルター装置内に充填する場合は、血液の流れ方向に対して最下流側に位置するよう充填することが好ましい。更に、本発明で規定した物性値を有する主多孔質素子は、厚み、素材、形態等によって限定されるものではない。

また、繊維体を本発明の白血球捕捉材やゲル捕捉材及びMA捕捉材として使用する場合には、白血球選択除去フィルタ

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

43

一装置内に該捕捉材を充填される前にあらかじめ熱間圧縮がなされていることが好ましい。熱間圧縮は、ホールドアップ体積の小さいフィルター装置の提供を可能とするためである。熱間圧縮による成形は、外部から熱を加えて圧縮したり、高周波等によって繊維体内部から加熱し圧縮する方法が挙げられる。また、ここで言う熱間圧縮は本発明の主多孔質素材（第2ステージの白血球捕捉剤）、血液製剤中に混入している全白血球の60%以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材、ゲル捕捉材、MA捕捉材の各捕捉材についてそれぞれ単独に行っても良いし、2つないし全ての捕捉材について同時に行っても良い。

このような構造をもつ白血球選択除去フィルター装置で、全血もしくは赤血球製剤および血小板製剤等の血液製剤を処理すると、血液上流側の多孔質素子の孔径が広いため、血球やゲルおよび微小凝集物による目詰まりが緩和され、血球が孔路にしたがって通過するようになり、その通過途中で徐々に白血球が多孔質素子に粘着、除去され、圧力損失を減ずることが可能となる。

また、本発明の白血球選択除去フィルター装置に充填する多孔質構造体において、血液下流側の主多孔質素子は、上記のように、本発明の基本的な態様により提供される白血球除去フィルター材の多孔質素子に相当するものであって、上記の主多孔質素子の諸特性の臨界性及びその効果は、白血球選

PCT/JP92/01064

択除去フィルター材の多孔質素子について前述した通りである。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

45

即ち、本発明の白血球選択除去フィルター装置において、充填された多孔質構造体が、該主多孔質素子の上流側に該主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有していて多孔質構造体の平均孔径が1～300 μm になるように構成されており、多孔質構造体の上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している、本発明の好ましい実施態様を例にとって説明すると、該多孔質構造体の血液上流側の平均孔径は10～300 μm 、より好ましくは10～150 μm 、最も好ましくは10～100 μm であることが望ましい。即ち、平均孔径が10 μm 未満であると白血球除去操作時において、フィルター材表面で血球目詰まりを引き起こし、圧力損失が増大するため好ましくなく、一方平均孔径が300 μm を超えるものであると、血球とフィルター材表面との接触頻度が低下するため、白血球などの血液上流側フィルター材表面での除去率が低下し、フィルター材内部での血球などの目詰まりを引き起こすので好ましくない。また、血液下流側の平均孔径は1～25 μm 、より好ましくは3～20 μm 、最も好ましくは5～18 μm であることが望ましい。即ち、平均孔径が1 μm 未満であると孔路が狭すぎるため圧力損失が増大し、一方25 μm を超える平均孔径であると、白血球の除去量が低下してしまうためである。

一方、該多孔質構造体の血液下流側（主多孔質素子側）の

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

46

全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ (多孔質素子) であり、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が 90% 以上であることが必要である。又、下流側の全表面積は $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、最も好ましくは $0.70 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であり、このうち $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は血液下流側の多孔質体の全表面積の 50% 以上、好ましくは 55% 以上、より好ましくは 60% 以上であって、且つ $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は血液下流側の全表面積の 60% 以上、好ましくは 65% 以上、より好ましくは 70% 以上であることが望ましい。 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 38% 以下であることが好ましく、より好ましくは 30% 以下、最も好ましくは 28% 以下であることが望ましい。血液下流側の全表面積が $0.50 \text{ m}^2/\text{ml}$ 未満であると白血球が粘着する表面積が少ないため、白血球漏出が起こり、 $5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ を越えると血液処理に要する時間が長くなったり、白血球のみならず赤血球や血小板も除去されやすくなり、目詰まりによる圧力損失の増加が起こるため好ましくない。また、血液下流側の多孔質素子の $1 \sim 10 \mu\text{m}$ および $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が、それぞれ、血液下流側の多孔質素子の全表面積の 50% 未満および 60% 未満であると、リンパ球漏出または目詰まりを誘発するため好ましくない。また、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分は血球が通過し難い細孔であるため、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 38% を超える

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

47

と赤血球や血小板の回収量が低下するので好ましくない。

上記した通り、下流側（主多孔質素子）においては、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が 90% 以上である。また $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 6% 以下であることが好ましい。より望ましくは全細孔容積が $0.50 \sim 0.95 \text{ ml} / \text{ml}$ 、最も望ましくは $0.60 \sim 0.95 \text{ ml} / \text{ml}$ であることが好ましく、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ 細孔部分の容積が 95% 以上、最も好ましくは 98% 以上であることがより好ましい。また、孔径 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 4% 以下、最も好ましくは 2% 以下であることがより好ましい。全細孔容積が $0.40 \text{ ml} / \text{ml}$ 未満であると血液が通過するための細孔の空間容積が不足し、血球による目詰まりが生じ、 $0.95 \text{ ml} / \text{ml}$ を超えると多孔質素子の強度が低下し、もはや濾材としての機能を果たさなくなるため好ましくない。また、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ 細孔部分の容積が 90% 未満であるような多孔質素子は、白血球除去に有効な細孔量が低下し、白血球漏出または目詰まりが起こるため好ましくなく、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔の部分細孔容積が 6% を超えると白血球漏出の危険性が高まり、効率よく白血球を除去できなくなるため好ましくない。

また、該多孔質構造体の血液上流側の平均孔径は血液下流側の平均孔径の $2 \sim 100$ 倍、より好ましくは $3 \sim 50$ 倍、最も好ましくは $3 \sim 25$ 倍であることが望ましい。即ち、血

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

48

液上流側と下流側の平均孔径比が2倍未満であると白血球などによる目詰まりが生じ、一方平均孔径比が100倍を超えると、血液下流側での白血球などの目詰まりが生じ、圧力損失が増大する。

また、塩基性官能基を多孔質構造体表面に導入する場合は、多孔質構造体の表面の塩基性官能基の密度は $10^{-6} \sim 3 \text{ meq/m}^2$ 、より好ましくは $10^{-5} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ であることが望ましい。酸性官能基を多孔質構造体表面に導入する場合は、多孔質構造体の表面の酸性官能基の密度は $10^{-4} \sim 5 \text{ meq/m}^2$ 、より好ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ であることが望ましい。

多孔質構造体の表面の塩基性官能基の密度が 10^{-6} meq/m^2 未満であるか、または酸性官能基の密度が 10^{-4} meq/m^2 未満であると静電的な作用が不十分となりやすく、また多孔質構造体の表面の塩基性官能基の密度が 3 meq/m^2 を超えるか、または酸性官能基の密度が 5 meq/m^2 を超えると、白血球のみならず他の成分、即ち、赤血球や血小板にも影響をおよぼすようになって、溶血等の現象が起きやすい。

また、本発明の白血球選択除去フィルター装置に用いられる多孔質構造体の臨界湿潤表面張力(CWST)は、少なくとも 65 dyn/cm であることが好ましい。

前述したように、各血球成分は異なる粒子径および粘着能

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

49

を有し、血液製剤によって血液粘性等も異なるものである。従って、白血球除去処理に付す血液製剤が異なった種類のものであれば、多孔質構造体の好ましい平均孔径及び孔径分布は、本発明の範囲内において適宜選択して用いることができる。

以下に赤血球製剤用の白血球除去フィルター材装置と血小板製剤用の白血球除去フィルター装置を例にとって説明する。

全血(WB)や濃厚赤血球(CRC)の赤血球製剤は、前述のように、血球成分の含量が約40～70%の比較的血液粘性の高い製剤であり、混入している白血球も粘着能が高く、粒子径の大きい顆粒球と単球が約60%を占め、粘着能が低く且つ粒子径の小さいリンパ球が40%程度である。このような赤血球製剤から赤血球を通過させ、白血球は除去するための多孔質構造体としては、平均孔径が3～300 μ m、より好ましくは3～200 μ m、最も好ましくは3～100 μ mの連続孔を有するものであって、血液上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少しているものが好ましい。さらに、多孔質構造体の血液上流側の平均孔径が15～300 μ m、より好ましくは15～200 μ m、最も好ましくは15～100 μ mであることが望ましく、血液下流側の平均孔径が3～25 μ m、より好ましくは5～20 μ mであることが望ましい。血液上流

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

50

側の平均孔径が $15\ \mu\text{m}$ 未満であると多孔質構造体表面での目詰まりが生じやすく、一方、血液上流側の平均孔径が $300\ \mu\text{m}$ を超えると血液下流側での目詰まりを起こしやすい。また、血液下流側の平均孔径が $3\ \mu\text{m}$ 未満であると圧力損失が増大しやすく、一方、血液下流側の平均孔径が $25\ \mu\text{m}$ を超えると白血球の除去量が低下しやすい。さらに、血液上流側の多孔質素子の平均孔径が血液下流側の多孔質素子（主多孔質素子）の平均孔径の $3\sim100$ 倍、より好ましくは $3\sim50$ 倍、最も好ましくは $3\sim25$ 倍であることが望ましい。血液上流側と下流側の平均孔径比が 3 倍未満であると、目詰まりが生じやすい。一方平均孔径比が 100 倍を超えると目詰まりが生じ、圧力損失が増加して好ましくない。多孔質構造体の血液下流側（主多孔質素子）全細孔容積は、 $0.40\sim0.95\ \text{ml/ml}$ 、このうち $2\sim30\ \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 85% 以上であり、より望ましくは 90% 以上、更に望ましくは 96% 以上であることが好ましい。また、血液下流側の主多孔質素子の全表面積は $0.50\sim5.70\ \text{m}^2/\text{ml}$ 、より好ましくは $0.80\sim5.70\ \text{m}^2/\text{ml}$ であることが望ましく、このうち $2\sim10\ \mu\text{m}$ 細孔部分の表面積が血液下流側の全表面積の 35% 以上、より好ましくは 45% 以上であることが望ましく、 $2\sim30\ \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が血液下流側の全表面積の 50% 以上、より好ましくは 60% 以上であることが望ましい。更に、赤血球製剤

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

5 1

中の赤血球は変形能が高いため、比較的小さい細孔部分でも変形しながら通過することが可能であるが、 $2\mu\text{m}$ 未満の細孔を通過する時には、赤血球の通過抵抗に起因する圧力損失の増加が懸念される。そのため、赤血球製剤から白血球を除去する白血球選択除去フィルター装置の下流側としては、 $2\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積が8%以下、より望ましくは5%以下、 $2\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は40%未満、より好ましくは30%未満であることが望ましい。血液下流側の $2\sim 10\mu\text{m}$ および $2\sim 30\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が血液下流側の全表面積の35%未満、50%未満であると、白血球除去量が低下しやすく、または目詰まりを引き起こしやすい。また、 $2\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が40%を超えると赤血球通過抵抗による圧力損失の増加が生じやすい。

また、赤血球製剤処理用の場合、多孔質構造体のCWS Tは $65\sim 90\text{dyn/cm}$ 、多孔質構造体の表面に塩基性官能基を導入する場合には、多孔質構造体の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-4}\sim 3\text{meq/m}^2$ 、より好ましくは $10^{-3}\sim 1\text{meq/m}^2$ 、最も好ましくは $10^{-2}\sim 10^{-1}\text{meq/m}^2$ であることが望ましい。多孔質構造体の表面に酸性官能基を導入する場合には、多孔質構造体の表面積あたりの酸性官能基の密度が $5\times 10^{-2}\sim 5\text{meq/m}^2$ 、より好ましくは $8\times 10^{-2}\sim 1\text{meq/m}^2$ 、最も好ましくは $10^{-1}\sim 5\times 10^{-1}\text{meq/m}^2$ であることが望ましい。多孔

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

52

質構造体の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-4} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満、または酸性官能基の密度が $5 \times 10^{-2} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満であると白血球除去が不十分になりやすく、また、塩基性官能基の密度が $3 \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えるか、または酸性官能基の密度が $5 \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えると溶血等の現象が起き易い。

多血小板血漿（PRP）や濃厚血小板（PC）の血小板製剤は血球成分の含量が低く、ほとんどが水であるため比較的血液粘性の低い製剤であり、混入している白血球も、粘着能が低く粒子径の小さいリンパ球が約90%を占めるという特徴がある。このような血小板製剤から、血小板を通過させ、白血球は捕捉、除去するためのフィルター材装置の多孔質構造体としては、平均孔径が $1 \sim 200 \mu\text{m}$ 、より好ましくは $1 \sim 100 \mu\text{m}$ 、最も好ましくは $2 \sim 50 \mu\text{m}$ の連続孔を有するものであって、血液上流側から下流側に向かって多孔質素子の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少しているものが望ましい。さらに、血液上流側の平均孔径は $10 \sim 200 \mu\text{m}$ 、より好ましくは $10 \sim 100 \mu\text{m}$ 、最も好ましくは $10 \sim 50 \mu\text{m}$ であることが望ましく、血液下流側の多孔質素子の平均孔径は $1 \sim 15 \mu\text{m}$ 、より好ましくは $2 \sim 12 \mu\text{m}$ であることが望ましい。又、下流側（主多孔質素子）の全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml} / \text{ml}$ （主多孔質素子）、このうち $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

53

の 85% 以上、より望ましくは 90% 以上であることが好ましい。血液上流側の平均孔径が $10\text{ }\mu\text{m}$ 未満であると白血球除去操作時において、多孔質構造体表面で血球などの目詰まりを引き起し、一方、血液上流側の平均孔径が $200\text{ }\mu\text{m}$ を超えると血液下流側での目詰まりが起きやすい。また、血液下流側の平均孔径が $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満であると圧力損失が増大し、一方、血液下流側の平均孔径が $15\text{ }\mu\text{m}$ を超えると実質的にリンパ球除去に有効ではなくなる。そのため、血小板製剤から白血球を除去する白血球選択除去フィルター装置の多孔質構造体の下流側（主多孔質素子）は、 $25\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 10% 以下が好ましい。さらに、血液上流側の平均孔径が血液下流側の平均孔径の 2～60 倍、より好ましくは 2～30 倍、最も好ましくは 2～20 倍であることが望ましい。血液上流側と下流側の平均孔径比が 2 倍未満であると、目詰まりが生じたり、白血球の除去量が低下する。平均孔径比が 60 倍を超えると目詰まりが生じやすく、圧力損失が増加しやすい。また、血液下流側の全表面積は $0.50\sim 5.70\text{ m}^2/\text{m}^1$ 、より好ましくは $0.50\sim 2.50\text{ m}^2/\text{m}^1$ であることが望ましく、このうち $1\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が血液下流側の全表面積の 55% 以上、より好ましくは 65% 以上であることが望ましく、 $1\sim 25\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が血液下流側の全表面積の 58% 以上、より好ましくは 65% 以上であることが望ましく、 $25\text{ }\mu\text{m}$ を

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

5 4

超える細孔部分の表面積は4%以下、より好ましくは2%以下であることが望ましい。血小板製剤に含まれている白血球の大部分は、低粘着性小粒子径のリンパ球であり、粘着能の高い血小板が多量に含まれているため、血液下流側の1~10 μm および1~25 μm の細孔部分の表面積がそれぞれ血液下流側の多孔質素子の全表面積の55%未満および58%未満であるとリンパ球漏出が生じやすい。また、25 μm を超える細孔部分の表面積が4%を超えるとリンパ球漏出が起こりやすい。また、血小板製剤を処理する場合、血小板 2×10^{10} 個当りの多孔質構造体の全表面積が0.01~0.08 m^2 、より好ましくは0.02~0.08 m^2 、最も好ましくは0.02~0.06 m^2 であることが望ましい。全表面積が0.01 m^2 未満であると白血球除去量が少なすぎて実用に至らず、一方、全表面積が0.08 m^2 を超えるものがあると血小板がフィルター材に粘着し、血小板回収量が低下しやすい。ここで、血小板 2×10^{10} 個とは、濃厚血小板製剤20 ml 中に含まれる血小板数に相当する血小板個数である。

また、血小板製剤処理用フィルター装置の場合、多孔質構造体のCWS T値は85 dyn/cm 以上、より望ましくは95 dyn/cm 以上、多孔質構造体の表面に塩基性官能基を導入する場合には、多孔質構造体の表面の塩基性官能基の密度が $10^{-6} \sim 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ 、より好ましくは 10^{-5}

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

55

～ $10^{-1} \text{ meq} / \text{m}^2$ 、最も好ましくは $10^{-4} \sim 10^{-2} \text{ meq} / \text{m}^2$ であることが望ましい。多孔質構造体の表面に酸性官能基を導入する場合には、表面の酸性官能基の密度が $10^{-4} \sim 1 \text{ meq} / \text{m}^2$ 、より好ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-1} \text{ meq} / \text{m}^2$ 、最も好ましくは $5 \times 10^{-3} \sim 10^{-2} \text{ meq} / \text{m}^2$ であることが望ましい。グラフト重合やコーティング等で多孔質素子の表面を改質し、CWS T値を $85 \text{ dyn} / \text{cm}$ 以上に増加させた多孔質素子や親水性の官能基を有する高分子材料から合成され、表面改質を施さなくともCWS T値が上記の範囲内に入る多孔質素子を用いて血小板製剤を処理すると血液による多孔質素子への湿潤が容易になるばかりか、血小板の粘着を抑制する効果も付与することができるため好適である。また、多孔質素子表面への塩基性官能基または酸性官能基の導入は、白血球細胞と多孔質素子表面での静電的相互作用により白血球の除去能が向上し、また血小板回収量も向上しうるため好ましい。多孔質素子の表面積あたりの塩基性官能基の密度が $10^{-6} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満、または酸性官能基の密度が $10^{-4} \text{ meq} / \text{m}^2$ 未満であると白血球除去が不十分になり、また、塩基性官能基の密度が $10^{-1} \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えるか、または酸性官能基の密度が $1 \text{ meq} / \text{m}^2$ を超えると白血球のみならず血小板も除去されやすい。

上記したように、本発明の白血球選択除去フィルター装置は、一般的には、圧力損失を増大させず、小型で、しかも白

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

56

血球含有浮遊液を処理すると処理された浮遊液中の白血球残存率が 10^{-4} 以下となる高い白血球除去性能を有するものであるが、特に、赤血球製剤用の白血球選択除去フィルター装置の性能としては、白血球残存率は 10^{-4} 以下、赤血球回収率は90%以上、濾過終了時の圧力損失は150 mmHg以下が好ましく、血小板製剤用の白血球選択除去フィルター装置の性能としては、白血球残存率は 10^{-4} 以下、血小板回収率は85%以上、濾過終了時の圧力損失は70 mmHg以下が好ましい。

発明を実施するための最良の形態

以下実施例に基づき本発明を更に詳細に説明するが、これらの実施例は本発明の範囲を限定するものではない。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

57

実施例 1

血液の入口と出口を有し、有効濾過断面積が $4.9 \text{ cm} \times 4.9 \text{ cm}$ の白血球捕捉フィルター装置にポリエチレンテレフタレート (PET) からなり、あらかじめ熱間圧縮を施した、平均繊維径が $1.8 \mu\text{m}$ の不織布を充填し、厚みを 3.3 mm とした。この白血球選択除去フィルター材は平均孔径が $9.2 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.85 ml/ml (多孔質素子)、全細孔面積が $0.95 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 53% 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 98% 、 71% 、 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 94% 、 60% 、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 1% 、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 28% 、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 5% 、 39% の孔径分布を有するものを用いた。

450 ml の血液に 63 ml の CPD 液 (citrate phosphate dextrose solution) を加えて調製した全血 513 ml から、採血後 8 時間以内に遠心分離によって多血小板血漿 243 ml を除去して調製し、 4°C で 15 日間保存した赤血球製剤 (ヘマトクリット 68%) を 25°C になるまで室温 (26°C) に放置した後、ゲル捕捉材として平均繊維径が $20 \mu\text{m}$ のニードル繊維構造体、MA 捕捉材として平均繊維径が $3 \mu\text{m}$ の不織布、第 1 ステージの白血球捕捉材として平均繊維径が $2.2 \mu\text{m}$ の不織布を、有効濾過断面積が $6.7 \text{ cm} \times 6.7 \text{ cm}$

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

5 8

m の容器に充填して作成したフィルターで処理し、ゲル、M

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

59

A及び90%の白血球を除去した後の該赤血球製剤200mlを新しい血液バッグに移し、上記の白血球選択除去フィルター装置で濾過した。

濾過を開始するに当たり、フィルター装置を血液回路を介して赤血球製剤が入っている血液バッグに接続した後、血液バッグを手でつかんで加圧し、フィルター装置内に血液を満たした。かくして血液がフィルター装置内に満たされた後、ペリスタポンプを用いて4.5ml/分の一定流速で流し続け、濾過に伴う圧力損失をデジタル式の圧力計で測定した。濾過の終了は、血液バッグ内の血液がなくなった時点とし、フィルター装置下流に血液回路を介して接続した回収バッグをフィルター装置の血液出口の下流30～40cmの所で回路ごと切断し、回路及び回収バッグ内の赤血球製剤を回収液とした。

濾過前の赤血球製剤(以下、濾過前液という)及び回収液の体積、ヘマトクリット、白血球数を測定し、赤血球回収率及び白血球残存率を求めた。

$$\text{赤血球回収率} = \{ \text{回収液体積} \times \text{ヘマトクリット(回収液)} \} / \{ \text{濾過前液体積} \times \text{ヘマトクリット(濾過前液)} \}$$

$$\text{白血球残存率} = \{ \text{白血球数(回収液)} \} / \{ \text{濾過前液体積} \times \text{白血球濃度(濾過前液)} \}$$

なお、濾過前液及び回収液の体積は、各々の重量を比重1.075(赤血球製剤の代表的な比重)で割った値とした。ま

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

60

た、白血球濃度の測定は次の方法で行った。

濾過前液の白血球濃度の測定：チュルク液によって、10倍希釈した濾過前液をバーカーチュルク型の血球計算板に注入し、光学顕微鏡を用いて大区画4区画中に存在する白血球をカウントし、この値を n_{pre} とした。

白血球濃度(濾過前) = $n_{pre} \times 0.25 \times 10^5$ 個/ml

また、回収液の白血球数の測定は、以下に記す、極めて高感度の方法によった。

回収液の入ったバッグ内に5%フィコール400DLのEBSS溶液(以下フィコール液という)を回収液と同容量を振とう混和しながら加え、血漿分離スタンド上で回収バッグを固定し、40分間静置した。静置後、沈降している赤血球層を乱さぬように、静かに上澄を回収した後、再びフィコールを前回と同容量回収液バッグに加え、同様の操作を繰り返した。2回の操作により回収された上澄をコーニング25350遠心チューブ4本に分注し、 $840 \times g$ 、15分遠心し、沈渣を吸い上げぬように注意しながら、上澄をアスピレーターで廃棄した。各遠心チューブに200mlの溶血液(1.145%しゅう酸アンモニウム生理食塩液)を加えて振とう混和し、ただちに $468 \times g$ 、10分間遠心し、前述と同様の注意を払いながら、上澄をアスピレーターで廃棄した。

4本分の沈渣を15mlの遠心チューブに集め、溶血液を加えて全量を15mlとした後、10分間室温に静置し、4

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

61

68 × g、10 分間遠心し、沈渣を含む 0.5 ml を残し、上澄を慎重に廃棄した。沈渣を含む液を十分に攪拌して単一細胞浮遊液とした後、蛍光染色液(69.9 mg / l アクリジンオレンジ液) 50 μl を加え、更に攪拌した。この液を、改良型ノイバウエル式血球計算板 6 枚に注入し、落射式蛍光顕微鏡を用いて大区画 108 区画中に存在する白血球をカウントした。

このカウント値 $n_{p.o.s.}$ から次式によって、白血球数(回収液)を算出した。

$$\text{白血球数(回収液)} = \frac{n_{p.o.s.} \times (1 / 108) \times 10^4}{\times 0.55 \times (1 / 0.55)}$$

下線部が回収液からフィコール液を用いて最終的に 0.55 ml まで濃縮した液(以下濃縮液という)中の白血球濃度(個 / ml)であり、これに濃縮液の体積 0.55 ml を乗じて白血球数を算出する。更に 0.55 で割るのは、フィコール液を用いて白血球を回収する際の回収率が 55 % であるためである。

以上の結果、赤血球回収率は 95 %、白血球残存率は 10^{-4.2}、濾過終了時の圧力損失は 103 mmHg と良好な結果であった。

比較例 1

血液の入口と出口を有し、有効濾過断面積が 4.9 cm × 4.9 cm の白血球除去フィルター装置にポリエチレンテレ

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

62

フタレート (PET) からなり、あらかじめ熱間圧縮を施した、平均繊維径が $1.8 \mu\text{m}$ の不織布を充填し、厚みを 3.3 mm とした。この白血球除去フィルター材は平均孔径が $14.2 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.72 ml/ml (多孔質素子)、全細孔表面積が $0.56 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 29% 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 78% 、 56% 、 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 74% 、 34% 、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 16% 、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 42% 、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 10% 、 57% の孔径分布を有するものを用いた。

実施例 1 と同様な条件下で実験を行ったところ、このフィルター材は本発明のフィルター材と比較すると孔径分布が広く、特に白血球漏出が起こる $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 16% と大きいため、白血球残存率は $10^{-2.2}$ と高かった。また、赤血球回収率は 91% 、濾過終了時の圧力損失は 118 mmHg であり良好な結果であった。

実施例 2

血液の入口と出口を有し、有効濾過断面積が $6.7 \text{ cm} \times 6.7 \text{ cm}$ の白血球捕捉フィルター装置に血液上流側から下流側に向かって、ゲル捕捉材、MA 捕捉材、第 1 ステージの白血球捕捉材、本発明の白血球選択除去フィルター材を充填し、厚みを 5 mm とした。ゲル捕捉材、MA 捕捉剤材、第 1

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

63

ステージの白血球捕捉材、本発明の白血球選択除去フィルター材は実施例1と同様のものを用い、あらかじめ熱間圧縮を施したものをを用いた。

このようにして作製した、白血球選択除去フィルター装置にヒドロキシエチルメタクリレート（HEMA）とジメチルアミノエチルメタクリレート（DM）からなるポリマー（ポリマー中のDM含量は30モル%）の0.5%エタノール溶液を通液することによりコーティングし、その後、窒素ガスを通気し、更に1mmHg以下の真空下、40℃で24時間乾燥した。乾燥後の白血球選択除去フィルター材のCWST値及び塩基性官能基の密度を測定したところ、CWST値が80dyn/cm、塩基性官能基の密度が 4.8×10^{-3} meq/m²であった。

450mlの血液に63mlのCPD液を加えて調製した全血513mlから、採血後8時間以内に遠心分離によって多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で3日間保存した後、生理食塩水を加えて352mlとした赤血球製剤（ヘマトクリット55%）を、25℃になるまで室温（26℃）に放置した後、上記のフィルター装置を組み込んだ血液回路を用いて濾過した。処理流速はペリスタポンプで10ml/分の一定流速に調整し、濾過に伴う圧力損失をデジタル式の圧力計で測定した。

以上の結果、赤血球回収率は92%、白血球残存率は10

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

64

-5.2、濾過終了時の圧力損失は132 mmHgと良好な結果であった。

比較例 2

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物、最下流側の白血球除去フィルター材は比較例1と同様の物を用い、厚みを5 mmとした（有効濾過断面積6.7 cm×6.7 cm）。また、上記の各捕捉材は実施例2と同様な熱間圧縮を施したものである。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例2と同様のポリマー（HEMAとDMからなるポリマー、ポリマー中のDM含量は30モル%）をコーティングしたものであり、CWT値は80 dyn/cm、塩基性官能基の密度は $4.7 \times 10^{-3} \text{ meq/m}^2$ であった。

実施例2と同様な条件下で実験を行ったところ、赤血球回収率は90%、濾過終了時の圧力損失は148 mmHgと良好な結果であったが、白血球除去能がやや低く白血球残存率は $10^{-3.2}$ であった。

比較例 3

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物を用い、最下流側に平均繊維径が1.8 μm のPETからなる不織布を充填し、厚みを5 mmとした（有効濾過断面積6.7 cm×6.7 cm）。また、上記の各捕捉材は実施例2と同様な熱間圧縮を施したものである。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

65

最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $5.1 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.37 ml/ml (多孔質素子)、全細孔表面積が $0.55 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 33% 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 87% 、 46% 、 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 86% 、 35% 、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 1% 、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 53% 、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 13% 、 64% の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球捕捉フィルター装置も実施例 1 と同様のポリマー (HEMA と DM からなるポリマー、ポリマー中の DM 含量が $30 \text{ mol}\%$) をコーティングしたものであり、CWT 値は 80 dyn/cm 、塩基性官能基の密度は $4.8 \times 10^{-2} \text{ meq/m}^2$ であった。

実施例 2 と同様な条件下で実験を行ったところ、白血球残存率は $10^{-4.8}$ と十分な白血球除去能を有していた。しかし、全細孔容積が小さく、かつ血球が通過し難い $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積がそれぞれ 13% 、 64% と高いため、赤血球回収率は 79% と低く、かつ濾過終了時の圧力損失は 500 mmHg 以上と高かった。

実施例 3

ゲル捕捉材、MA 捕捉材、第 1 ステージの白血球捕捉材は実施例 1 と同様の物を用い、最下流側にポリビニルホルマー

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

66

ル (P V F) からなる三次元網目状連続細孔を有するスポンジ状構造物を充填し、厚みを 4 mm とした (有効濾過断面積 6.7 cm × 6.7 cm)。また、上記捕捉材のうちゲル捕捉材、MA 捕捉材、第 1 ステージの白血球捕捉材は実施例 2 と同様な熱間圧縮による予備成形を施したものである。

最下流側の白血球選択除去フィルター材は平均孔径が 9.4 μ m であり、全細孔容積が 0.90 ml/ml (多孔質素子)、全細孔表面積が 0.81 m²/ml、2 ~ 10 μ m の細孔部分の表面積が 55%、1 ~ 30 μ m の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 98%、73%、2 ~ 30 μ m の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 96%、61%、30 μ m を超える細孔部分の容積が 2%、1 μ m 未満の細孔部分の表面積が 26%、2 μ m 未満の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 4%、38% の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例 1 と同様のポリマー (HEMA と DM からなるポリマー、ポリマー中の DM 含量は 30 モル%) をコーティングしたものであり、C W S T 値は 82 dyn/cm、塩基性官能基の密度は 4.7×10^{-3} meq/m² であった。

実施例 2 と同様な条件下で実験を行ったところ、赤血球回収率は 95%、白血球残存率は $10^{-5.1}$ 、濾過終了時の圧力損失は 108 mmHg と良好な結果であった。

比較例 4

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

67

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物を用い、最下流側にPVFからなるスポンジ状構造物を充填し、厚みを4mmとした（有効濾過断面積 $6.7\text{ cm} \times 6.7\text{ cm}$ ）。また、上記捕捉材のうちゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例2と同様な熱間圧縮を施したものである。最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $8.0\text{ }\mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.41 ml/ml （多孔質素子）、全細孔表面積が $0.59\text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $2\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が35%、 $1\sim 30\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ81%、54%、 $2\sim 30\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ78%、41%、 $30\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が9%、 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が44%、 $2\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ13%、57%の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例1と同様のポリマー（HEMAとDMからなるポリマー、ポリマー中のDM含量は30モル%）をコーティングしたものであり、CWS T値は 82 dyn/cm 、塩基性官能基の密度は $4.6 \times 10^{-2}\text{ meq/m}^2$ であった。

実施例2と同様な条件下で実験を行ったところ、赤血球回収率は89%と良好な結果であった。しかし、血球が通過し難い $2\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積がそれぞれ1

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

68

3%、57%とやや大きく、かつ白血球漏出の起こる $30\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積も9%とやや大きいため、白血球残存率は $10^{-3.4}$ と白血球除去能が多少不足しており、また濾過終了時の圧力損失も 205mmHg と高かった。

比較例 5

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物を用い、最下流側にPVFからなるスポンジ状構造物を充填し、厚みを 4mm とした（有効濾過断面積 $6.7\text{cm} \times 6.7\text{cm}$ ）。また、上記捕捉材のうちゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例2と同様な熱間圧縮を施したものである。最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $25.4\mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.55ml/ml （多孔質素子）、全細孔表面積が $0.60\text{m}^2/\text{ml}$ 、 $2 \sim 10\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が41%、 $1 \sim 30\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ70%、58%、 $2 \sim 30\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ69%、46%、 $30\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が28%、 $1\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が33%、 $2\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ3%、46%の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例1と同様のポリマー（HEMAとDMからなるポリマー、ポリマー中のDM含量は30%モル%）をコーティングしたものであり、CWS T値は8

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

69

2 dyn/cm、塩基性官能基の密度は $4.8 \times 10^{-3} \text{ meq/m}^2$ であった。実施例 2 と同様な条件下で実験を行ったところ、赤血球回収率は 97%、濾過終了時の圧力損失は 51 mmHg と良好な結果であった。しかし、白血球漏出の起こる $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 28% と大きく平均孔径も $25.4 \mu\text{m}$ とやや大きいため、白血球残存率は $10^{-1.4}$ と白血球除去能は低かった。

実施例 4

血液の入口と出口を有し、有効濾過断面積が $3.0 \text{ cm} \times 3.0 \text{ cm}$ の白血球選択除去フィルター装置に血液上流側から下流側に向かって、ゲル捕捉材として平均繊維径が $15 \mu\text{m}$ のニードル繊維体、MA 捕捉材として平均繊維径が $3 \mu\text{m}$ の不織布、第 1 ステージの白血球捕捉材として平均繊維径が $2.2 \mu\text{m}$ の不織布、最下流側に本発明の白血球選択除去フィルター材として平均繊維径が $1.2 \mu\text{m}$ の不織布を充填し、厚みを 5 mm とした。また、ゲル捕捉材、MA 捕捉材、第 1 ステージの白血球捕捉材、本発明の白血球選択除去フィルター材はあらかじめ熱間圧縮を施したものをを用いた。最下流側の白血球選択除去フィルター材は PET からなり、平均孔径が $9.2 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.83 ml/ml (多孔質素子)、全細孔表面積が $1.02 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 63%、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 95%、72%、 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

70

細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ92%、71%、30 μm を超える細孔部分の容積が2%、1 μm 未満の細孔部分の表面積が27%、25 μm を超える細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ5%、2%の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球選択除去フィルターフィルター装置にHEMAとDMからなるポリマー（ポリマー中のDM含量は3モル%）の1.0%エタノール溶液を通液することによりコーティングし、その後、窒素ガスを通気し、更に、1 mm Hgの真空下、40℃で24時間乾燥した。乾燥後の白血球選択除去フィルター材のCWST値及び塩基性官能基の密度を測定したところ、CWST値が102 dyn/cm、塩基性含窒素官能基の密度が $9.5 \times 10^{-4} \text{ meq/m}^2$ であった。

濃度血小板230 ml（CPD液30 ml加）を2日間室温で振とう保存し、上記のフィルター装置を組み込んだ血液回路を用いて濾過した。濾過を開始するに当たり、フィルター装置を血液回路を介して血小板製剤が入っている血液バッグに接続した後、フィルター装置内に血液を満たした。かくして血液がフィルター内に満たされた後、ペリスタポンプを用いて5 ml/分の一定流速で流し続け、濾過に伴う圧力損失をデジタル式の圧力計で測定した。濾過の終了は、血液バッグ内の血液がなくなった時点とし、フィルター装置下流に血液回路を介して接続した回収バッグをフィルター装置の血

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

71

液出口の下流 30～40 cm のところで回路ごと切断し、回路及び回収バッグ内の血小板製剤を回収液とした。

濾過前の血小板製剤(以下、濾過前液という)及び回収液の体積、血小板数、白血球数を測定し、血小板回収率及び白血球残存率を求めた。

$$\text{血小板回収率} = \{ \text{回収液体積} \times \text{血小板濃度(回収液)} \} / \{ \text{濾過前液体積} \times \text{血小板濃度(濾過前液)} \}$$

$$\text{白血球残存率} = \{ \text{白血球数(回収液)} \} / \{ \text{濾過前液体積} \times \text{白血球濃度(濾過前液)} \}$$

なお、濾過前液及び回収液の体積は、各々の重量を比重 1.030 (血小板製剤の代表的な比重) で割った値とした。また、白血球濃度の測定は次の方法で行った。

濾過前液の白血球濃度の測定：チュルク液によって、10 倍希釈した濾過前液をビルケルチュルク型の血球計算板に注入し、光学顕微鏡を用いて大区画 8 区画中に存在する白血球をカウントし、この値を n_{pr} とした。

$$\text{白血球濃度(濾過前)} = n_{pr} \times 1 / 8 \times 10^5 \text{ 個} / \text{ml}$$

また、回収液の白血球数の測定は、実施例 1 と同等の極めて高感度の方法によった。

また、血小板濃度の測定は、250000 倍希釈した検体を自動血球カウンターで測定して求めた。

以上の結果、血小板回収率は 93%、白血球残存率は $10^{-5.0}$ 、濾過終了時の圧力損失は 48 mmHg と良好な結果。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

72

であった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.072 m^2 であった。

比較例 6

ゲル捕捉材、MA 捕捉材、第 1 ステージの白血球捕捉材は実施例 3 と同様の物を用い、最下流側に平均繊維径 $1.2 \mu\text{m}$ の PET からなる不織布を充填し、厚みを 4 mm とした（有効濾過断面積 $3.0 \text{ cm} \times 3.0 \text{ cm}$ ）。また、上記の各捕捉材は実施例 1 と同様な熱間圧縮を施したものである。最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $10.6 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.79 ml/ml （多孔質素子）、全細孔表面積が $0.58 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 44% 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 84% 、 54% 、 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 80% 、 53% 、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 8% 、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 42% 、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 14% 、 5% の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例 3 と同様のポリマー（HEMA と DM からなるポリマー、ポリマー中の DM 含量は $3 \text{ mol}\%$ ）をコーティングしたものであり、CWT 値は 102 dyn/cm 、塩基性官能基の密度は $9.6 \times 10^{-4} \text{ meq/m}^2$ であった。実施例 4 と同様な条件下で

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

73

実験を行ったところ、血小板回収率は87%とほぼ良好な結果であった。しかし、リンパ球が漏出する $25\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積がそれぞれ14%、5%とやや大きいため、白血球残存率は $10^{-2.9}$ と多少白血球除去能が不足しており、濾過終了時の圧力損失も85mmHgと高かった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.056m^2 であった。

比較例7

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例3と同様の物を用い、最下流側に平均繊維径が $1.2\mu\text{m}$ のPETからなる不織布を充填し、厚みを4mmとした(有効濾過断面積 $3.0\text{cm} \times 3.0\text{cm}$)。また、上記の各捕捉材は実施例1と同様な熱間圧縮を施したものである。最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $16.2\mu\text{m}$ であり、全細孔容積が $0.86\text{ml}/\text{ml}$ (多孔質素子)、全細孔表面積が $0.51\text{m}^2/\text{ml}$ 、 $1 \sim 10\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が39%、 $1 \sim 30\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ77%、51%、 $1 \sim 25\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ71%、49%、 $30\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が20%、 $1\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が40%、 $25\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ26%、11%の孔径分布を有するものを用いた。この

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

74

ようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例3と同様のポリマー（HEMAとDMからなるポリマー、ポリマー中のDM含量は3モル%）をコーティングしたものであり、C W S T 値は 102 dyn/cm 、塩基性官能基の密度は $9.4 \times 10^{-4} \text{ meq/m}^2$ であった。

実施例4と同様な条件下で実験を行ったところ、血小板回収率が98%、濾過終了時の圧力損失は 26 mmHg と良好な結果であった。しかし、リンパ球漏出の起こる $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積がそれぞれ26%、11%と大きく、また平均孔径も $16.2 \mu\text{m}$ とやや大きいため、白血球残存率は $10^{-0.8}$ と低い白血球除去能であった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.045 m^2 であった。

実施例5

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物を用い、最下流側にポリウレタン（PU）からなる三次元網目状連続細孔を有するスポンジ状構造物を充填し、厚みを 3 mm とした（有効濾過断面積 $6.7 \text{ cm} \times 6.7 \text{ cm}$ ）。また、上記捕捉材のうち、ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様な熱間圧縮を施したものである。

最下流側の白血球選択除去フィルター材は平均孔径が $7.4 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.73 ml/ml （多孔質素

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

75

子)、全細孔表面積が $0.94 \text{ m}^2/\text{m}^3$ 、 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 60% 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 96% 、 66% 、 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 94% 、 65% 、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 1% 、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 34% 、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 3% 、 1% の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球選択除去フィルター装置も実施例3と同様のポリマー(HEMAとDMからなるポリマー、ポリマー中のDM含量は $3 \text{ mol}\%$)をコーティングしたものであり、CWS T値は $102 \text{ dyn}/\text{cm}$ 、塩基性官能基の密度は $9.6 \times 10^{-4} \text{ meq}/\text{m}^2$ であった。

実施例4と同様な条件下で実験を行ったところ、血小板回収率は 95% 、白血球残存率は $10^{-5.3}$ 、濾過終了時の圧力損失は 62 mmHg と良好な結果であった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.070 m^2 であった。

比較例8

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物を用い、最下流側にPUからなるスポンジ状構造物を充填し、厚みを 3 mm とした(有効濾過断面積 $3.0 \text{ cm} \times 3.0 \text{ cm}$)。また、上記捕捉材のうちゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

76

と同様な熱間圧縮を施したものである。最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $8.1 \mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.58 ml/ml （多孔質素子）、全細孔表面積が $0.78 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が 41% 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 81% 、 50% 、 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 79% 、 48% 、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 10% 、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 47% 、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ 12% 、 5% の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例 3 と同様のポリマー（HEMA と DM からなるポリマー、ポリマー中の DM 含量は $3 \text{ mol}\%$ ）をコーティングしたものであり、CWS T 値は 102 dyn/cm 、塩基性官能基の密度は $9.4 \times 10^{-4} \text{ meq/m}^2$ であった。

実施例 4 と同様な条件下で実験を行ったところ、血小板回収率は 89% とほぼ良好な結果であった。しかし、リンパ球漏出の起こる $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積がそれぞれ 12% 、 5% とやや大きいため、白血球残存率は $10^{-2.5}$ と多少白血球除去能が不足しており、濾過終了時の圧力損失も 90 mmHg と高かった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.085 m^2 であった。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

77

比較例 9

ゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様の物を用い、最下流側にPUからなるスポンジ状構造物を充填し、厚みを3mmとした（有効濾過断面積 $3.0\text{ cm} \times 3.0\text{ cm}$ ）。また、上記捕捉材のうちゲル捕捉材、MA捕捉材、第1ステージの白血球捕捉材は実施例1と同様な熱間圧縮を施したものである。最下流側の白血球除去フィルター材は平均孔径が $2.5\text{ }\mu\text{m}$ であり、全細孔容積が 0.11 ml/ml （多孔質素子）、全細孔表面積が $0.49\text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $1\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が12%、 $1\sim 30\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ67%、14%、 $1\sim 25\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ66%、13%、 $30\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が3%、 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が85%、 $25\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積及び表面積がそれぞれ4%、2%の孔径分布を有するものを用いた。このようにして作製した白血球除去フィルター装置も実施例3と同様のポリマー（HEMAとDMからなるポリマー、ポリマー中のDM含量は3モル%）をコーティングしたものであり、CWST値は 102 dyn/cm 、塩基性官能基の密度は $9.6 \times 10^{-4}\text{ meq/m}^2$ であった。

実施例4と同様な条件下で実験を行ったところ、白血球残存率は $10^{-5.4}$ と良好な結果であった。しかし、血球目詰ま

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

78

りを起こす $1\ \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 85% と大きい
ため、血小板回収率は 51% と低く、また濾過終了時の圧力
損失も 500 mmHg 以上と高かった。また、血小板を処理
するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10}
個当たり $0.12\ \text{m}^2$ であった。

上述の実施例及び比較例の結果を表 1 及び表 2 に示す。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

79

表 1

	实施例 1	比较例 1	实施例 2	比较例 2	比较例 3	实施例 3	比较例 4	比较例 5
平均孔径 (μm)	9.2	14.2	9.2	14.2	5.1	9.4	8.0	25.4
全细孔容积 (ml/ml 多孔质素子)	0.85	0.72	0.85	0.72	0.37	0.81	0.41	0.55
全细孔表面积 (m^2/ml)	0.95	0.56	0.95	0.56	0.55	0.90	0.59	0.60
孔径分布 (%)								
1 μm 未満 表面积	28	42	28	42	53	26	44	33
2 μm 未満 容積 表面积	5 39	10 57	5 39	10 57	13 64	4 38	13 57	3 46
2~10 μm 表面积	53	29	53	29	33	55	35	41
1~30 μm 容積 表面积	98 71	78 56	98 71	78 56	87 46	98 73	81 54	70 58
2~30 μm 容積 表面积	94 60	74 34	94 60	74 34	86 35	96 61	78 41	69 46
30 μm 超過 容積	1	16	1	16	1	2	9	28
赤血球回收率 (%)	95	91	92	90	79	95	89	97
白血球残存率	$10^{-4.2}$	$10^{-2.2}$	$10^{-5.2}$	$10^{-3.2}$	$10^{-4.8}$	$10^{-5.1}$	$10^{-3.4}$	$10^{-1.4}$
圧力損失 (mmHg)	103	118	132	148	500以上	108	205	51

WO 93/03740

80

PCT/JP92/01064

表 2

		実施例 4	比較例 6	比較例 7	実施例 5	比較例 8	比較例 9
平均孔径 (μm)		9.2	10.6	16.2	7.4	8.1	2.5
全細孔容積 (ml/ml 多孔質素子)		0.83	0.79	0.86	0.73	0.58	0.11
全細孔表面積 (m^2/ml)		1.02	0.58	0.51	0.94	0.78	0.49
孔 徑 分 布 (%)	1 μm 未満 表面積	27	42	40	34	47	85
	1~10 μm 表面積	63	44	39	60	41	12
	1~25 μm 容積	92	80	71	94	79	66
	表面積	71	53	49	65	48	13
	1~30 μm 容積	95	84	77	96	81	67
	表面積	72	54	51	66	50	14
	25 μm 超過 容積	5	14	26	3	12	4
	表面積	2	5	11	1	5	2
	30 μm 超過 容積	2	8	20	1	10	3
血小板回収率 (%)		93	87	98	95	89	51
白血球殘存率		$10^{-5.0}$	$10^{-2.9}$	$10^{-0.8}$	$10^{-5.3}$	$10^{-2.5}$	$10^{-5.4}$
圧力損失 (mmHg)		48	85	26	62	90	500以上

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

81

実施例 6

ポリウレタンからなり、血液上流側の平均孔径が $30\ \mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $8\ \mu\text{m}$ の多孔質体を積層し、有効濾過面積が $43 \times 43\ \text{mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを $3\ \text{mm}$ とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は $0.80\ \text{ml/ml}$ (多孔質素子)、全表面積は $0.68\ \text{m}^2/\text{ml}$ 、このうち $1 \sim 10\ \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は 65% 、 $1 \sim 30\ \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 96% 、 74% であり、 $1 \sim 25\ \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 93% 、 72% 、 $25\ \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積は 4% 、 3% であり、 $1\ \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 25% 、 $30\ \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 1% であった。このようにして作製した白血球選択除去フィルター装置にヒドロキシエチルメタクリレート (HEMA) とジメチルアミノメチルメタクリレート (DM) からなるポリマー (ポリマー中の DM 含量は $3\ \text{mol}\%$) の 1% エタノール溶液を通液し、その後窒素ガスをフィルター装置内に通気し、さらに 40°C で 24 時間 $1\ \text{mmHg}$ 以下の真空下で乾燥した。多孔質体の表面積当たりの塩基性官能基密度は $9.5 \times 10^{-4}\ \text{meq/m}^2$ 、CWST 値は $102\ \text{dyn/cm}$ であった。

濃厚血小板 $460\ \text{ml}$ (CPD 液 $30\ \text{ml}$ 加) を 2 日間室温で振とう保存し、上記のフィルター装置を組み込んだ血液回路を用いて濾過した。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

82

実施例 4 と同様の条件下で実験を行ったところ、白血球残存率は、 $10^{-4.5}$ 、血小板回収率は 92%、濾過終了時の圧力損失は 26 mmHg と良好な結果であった。また、 2×10^{10} 個当たりの血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は 0.049 m^2 であった。

比較例 10

ポリウレタンからなり、 $8 \mu\text{m}$ の平均孔径をもつ多孔質体を有効濾過面積が $43 \times 43 \text{ mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを 3 mm とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は 0.73 ml/ml (多孔質素子)、全表面積は $0.72 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、このうち $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は 48%、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 86%、53% であり、 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 81%、50%、 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積は 10%、8% であり、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 42%、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 5% であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例 6 と同様のポリマーでコーティングし、CWS T 値および塩基性官能基密度を 102 dyn/cm 、 $9.7 \times 10^{-4} \text{ meq/m}^2$ とした。その後、実施例 6 と同様の血液回路を用い、血小板製剤を処理したところ、血小板回収率は 83% とほぼ良好な結果であった。しかし、白血球除去に有効な $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積が

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

83

それぞれ 81%、50%とやや小さいため、白血球残存率は $10^{-3.1}$ と白血球除去能が多少不足し、また、濾過終了時の圧力損失も 154 mmHg と高かった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.074 m^2 であった。

比較例 11

ポリウレタンからなり、血液上流側の平均孔径が 315 μm 、血液下流側の平均孔径が 3 μm の多孔質体を積層し、有効濾過面積が 43 × 43 mm の容器に充填し、フィルター材の厚みを 3 mm とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は 0.24 ml / ml (多孔質素子)、全表面積は 0.61 m^2 / ml、このうち 1 ~ 10 μm の細孔部分の表面積は 16%、1 ~ 30 μm の細孔部分の容積および表面積は 79%、18% であり、1 ~ 25 μm の細孔部分の容積および表面積は 79%、18%、25 μm を超える細孔部分の容積および表面積は 0%、0% であり、1 μm 未満の細孔部分の表面積は 82%、30 μm を超える細孔部分の容積は 0% であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例 6 と同様のポリマーでコーティングし、CWS T 値および塩基性官能基密度を 102 dyn / cm、 9.5×10^{-4} meq / m^2 とした。その後、実施例 6 と同様の血液回路を用い、血小板製剤を処理したところ、白血球残存率は $10^{-4.3}$ と良好な結果であった。しかし、血球目詰まり

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

84

を起こす $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 82% と高いため、血小板回収率は 40% と低かった。また、血液上流側の平均孔径と下流側の平均孔径が等しいこともあり、濾過終了時の圧力損失は 500 mmHg 以上と高かった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.030 m^2 であった。

比較例 12

ポリウレタンからなり、血液上流側の平均孔径が $80\text{ }\mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $25\text{ }\mu\text{m}$ の多孔質体を積層し、有効濾過面積が $43 \times 43\text{ mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを 3 mm とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は 0.91 ml/ml (多孔質素子)、全表面積は $0.22\text{ m}^2/\text{ml}$ 、このうち $1 \sim 10\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は 35% 、 $1 \sim 30\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 56% 、 45% であり、 $1 \sim 25\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 50% 、 41% 、 $25\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積は 48% 、 28% であり、 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 31% 、 $30\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 42% であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例 6 と同様のポリマーでコーティングし、CWS T 値および塩基性官能基密度を 102 dyn/cm 、 $9.2 \times 10^{-4}\text{ meq/m}^2$ とした。その後、実施例 6 と同様の血液回路を用い、血小板製剤を処理したところ、血小板

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

85

回収率は93%、濾過終了時の圧力損失は18 mmHgと良好な結果であった。しかし、リンパ球漏出が起こる25 μ mを超える細孔部分の容積および表面積がそれぞれ48%、28%と高いため白血球残存率は $10^{-1.3}$ と低い白血球除去能であった。また、血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積は、血小板 2×10^{10} 個当たり0.022 m^2 であった。

比較例 13

ポリウレタンからなり、血液上流側の平均孔径が25 μ m、血液下流側の平均孔径が5 μ mの多孔質体を積層し、有効濾過面積が43 \times 43 mmの容器に充填し、フィルター材の厚みを3 mmとした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は0.82 ml/ml (多孔質素子)、全表面積は1.04 m^2 /ml、このうち1~10 μ mの細孔部分の表面積は52%、1~30 μ mの細孔部分の容積および表面積は88%、58%であり、1~25 μ mの細孔部分の容積および表面積は84%、56%、25 μ mを超える細孔部分の容積および表面積は5%、2%であり、1 μ m未満の細孔部分の表面積は42%、30 μ mを超える細孔部分の容積は1%であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例6と同様のポリマーでコーティングし、CWS T値および塩基性官能基密度を102 dyn/cm、 9.2×10^{-4} meq/ m^2 とした。その後、実施例6と同様の血液回

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

86

路を用い、血小板製剤を処理したところ、白血球残存率は $10^{-3.7}$ とやや低めの白血球除去能であった。また、血小板血小板を処理するのに必要な多孔質構造体の実質表面積が、血小板 2×10^{10} 個当たり 0.12 m^2 と高いため、血小板回収率は71%と低く、濾過終了時の圧力損失も237 mmHgと高かった。

実施例 7

セルロースからなり、血液上流側の平均孔径が $50 \mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $12 \mu\text{m}$ の多孔質体を積層し、有効濾過面積が $67 \times 67 \text{ mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを5 mmとした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は 0.84 ml/ml （多孔質素子）、全表面積は $0.81 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、このうち $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は52%、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は98%、70%であり、 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は96%、62%、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積は3%、36%であり、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は26%、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は1%であった。このようにして作製した白血球選択除去フィルター装置にHEMAとDMからなるポリマー（ポリマー中のDM含量は30モル%）の0.5%溶液を通液し、その後実施例1と同様の操作で乾燥させた。多孔質体のCWS T値および表面積当たりの塩基性官能基密度は 82 dyn/cm 、4.

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

87

$5 \times 10^{-3} \text{ meq} / \text{m}^2$ であった。

実施例 2 と同様の条件下で実験を行ったところ、白血球残存率は $10^{-4.8}$ 、赤血球回収率は 93%、濾過終了時の圧力損失は 136 mmHg と良好な結果であった。

比較例 14

セルロースからなり、 $12 \mu\text{m}$ の均一な平均孔径をもつ多孔質体を有効濾過面積が $67 \times 67 \text{ mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを 5 mm とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は $0.38 \text{ ml} / \text{ml}$ （多孔質素子）、全表面積は $0.45 \text{ m}^2 / \text{ml}$ 、このうち $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は 34%、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 74%、55%であり、 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 73%、48%、 $2 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積は 7%、49%であり、 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 42%、 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 20%であった。このようにして作製した白血球選択除去フィルター装置に実施例 7 と同様のポリマーでコーティングし、CWS T 値及び塩基性官能基密度を $84 \text{ dyn} / \text{cm}$ 、 $4.5 \times 10^{-3} \text{ meq} / \text{m}^2$ とした。その後、実施例 7 と同様の血液回路を用い、赤血球製剤を処理したところ、赤血球回収率は 85%とやや低い回収率であった。また、白血球漏出の起こる $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が 20%と大きいため、白血球残存率は $10^{-3.7}$ と白血球除去能はやや

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

88

低く、血液上流側と下流側の平均孔径が等しいため、血液上流側での目詰まりが起こり、濾過終了時の圧力損失は348 mmHgと高かった。

比較例 15

セルロースからなり、血液上流側の平均孔径が $310\text{ }\mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $3\text{ }\mu\text{m}$ の多孔質体を積層し、有効濾過面積が $67\times 67\text{ mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを 5 mm とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は 0.75 ml/ml （多孔質素子）、全表面積は $1.20\text{ m}^2/\text{ml}$ 、このうち $2\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は 32% 、 $1\sim 30\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 88% 、 42% であり、 $2\sim 30\text{ }\mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 86% 、 34% 、 $2\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積は 12% 、 64% であり、 $1\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 57% 、 $30\text{ }\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 2% であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例7と同様のポリマーでコーティングし、CWS T値及び塩基性官能基密度を 82 dyn/cm 、 $4.0\times 10^{-3}\text{ meq/m}^2$ とした。その後、実施例7と同様の血液回路を用い、赤血球製剤を処理したところ、白血球残存率は $10^{-4.5}$ と良好な結果であった。しかし、血球が通過し難い $2\text{ }\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が 64% と大きく、また、血液上流側と下流側の平均孔径の孔径比が 103 と大きいいため、血液

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

89

下流側での目詰まりが起こり、赤血球回収率は79%と低く、また濾過終了時の圧力損失も500 mmHg以上と高かった。

比較例 16

セルローズからなり、血液上流側の平均孔径が $105\mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $30\mu\text{m}$ の多孔質体を積層し、有効濾過面積が $67\times 67\text{mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを5mmとした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は 0.69ml/ml （多孔質素子）、全表面積は $0.20\text{m}^2/\text{ml}$ 、このうち $2\sim 10\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は25%、 $1\sim 30\mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は66%、55%であり、 $2\sim 30\mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は65%、40%、 $2\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積は1%、46%であり、 $1\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は31%、 $30\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は34%であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例7と同様のポリマーでコーティングし、CWS T値及び塩基性官能基密度を 82dyn/cm 、 $4.8\times 10^{-3}\text{meq/m}^2$ とした。その後、実施例7と同様の血液回路を用い、赤血球製剤を処理したところ、赤血球回収率は95%、濾過終了時の圧力損失は46 mmHgと良好な結果であった。しかし、白血球漏出の起こる $30\mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が34%と高いため、白血球残存率は $10^{-1.5}$ と白血球除去能は低かった。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

90

比較例 17

セルロースからなり、血液上流側の平均孔径が $30\ \mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $5\ \mu\text{m}$ の多孔質体を積層し、有効濾過面積が $67 \times 67\ \text{mm}$ の容器に充填し、フィルター材の厚みを $5\ \text{mm}$ とした。このときの血液下流側の多孔質体の全細孔容積は $0.41\ \text{ml/ml}$ (多孔質素子)、全表面積は $0.52\ \text{m}^2/\text{ml}$ 、このうち $2 \sim 10\ \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は 41% 、 $1 \sim 30\ \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 84% 、 53% であり、 $2 \sim 30\ \mu\text{m}$ の細孔部分の容積および表面積は 83% 、 46% 、 $2\ \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積は 16% 、 53% であり、 $1\ \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は 46% 、 $30\ \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積は 1% であった。このようにして作製した白血球除去フィルター装置に実施例 7 と同様のポリマーでコーティングし、CWS T 値及び塩基性官能基密度を $84\ \text{dyn/cm}$ 、 $4.3 \times 10^{-3}\ \text{meq/m}^2$ とした。その後、実施例 7 と同様の血液回路を用い、赤血球製剤を処理したところ、白血球残存率は 10^{-3} 、赤血球回収率は 86% とやや低い結果であった。また、濾過終了時の圧力損失も $269\ \text{mmHg}$ と高かった。

実施例 6、7 および比較例 10～17 の結果を表 3 および表 4 に示す。

WO 93/03740

9 1

PCT/JP92/01064

表 3

		实施例 6	比较例10	比较例11	比较例12	比较例13
平均孔径 (μm)	血液上流侧	30	8	315	80	25
	血液下流侧	8	8	3	25	5
上流侧/下流侧 平均孔径比		3.8	1.0	105	3.2	5.0
下多 流孔 侧质 体	全细孔容积 (ml/ml)	0.80	0.73	0.24	0.91	0.82
	全表面积 (m^2/ml)	0.68	0.72	0.61	0.22	1.04
下孔 流径 侧分 多布 孔 质 体 (%)	1 μm 未満 表面积	25	42	82	31	42
	1~10 μm 表面积	65	48	16	35	52
	1~30 μm 容积	96	86	79	56	88
	表面积	74	53	18	45	58
	1~25 μm 容积	93	81	79	50	84
	表面积	72	50	18	41	56
	25 μm 超過 容积	4	10	0	48	5
	表面积	3	8	0	28	2
30 μm 超過 容积		1	5	—	42	1
血小板回收率(%)		92	83	40	93	71
白血球残存率		$10^{-4.5}$	$10^{-8.1}$	$10^{-4.3}$	$10^{-1.3}$	$10^{3.7}$
压力损失(mmHg)		26	154	500以上	18	237

WO 93/03740

9 2

PCT/JP92/01064

表 4

		実施例 7	比較例 14	比較例 15	比較例 16	比較例 17
平均 孔 徑 (μm)	血液上流側	50	12	310	105	30
	血液下流側	12	12	3	30	5
上流側/下流側 平均孔徑比		4.2	1.0	103	3.5	6.0
下多 流孔 側質 體	全細孔容積 (ml/ml)	0.84	0.38	0.75	0.69	0.41
	全表面積 (m^2/ml)	0.81	0.45	1.20	0.20	0.52
下孔 流徑 側分	1 μm 未満 表面積	26	42	57	31	46
	2 μm 未満 容積	3	7	12	1	16
多布 孔 質 體 (%)	表面積	36	49	64	46	53
	2~10 μm 表面積	52	34	32	25	41
	1~30 μm 容積	98	74	88	66	84
	表面積	70	55	42	55	53
	2~30 μm 容積	96	73	86	65	83
	表面積	62	48	34	40	46
30 μm 超過 容積		1	20	2	34	1
赤血球回収率 (%)		93	85	79	95	86
白血球残存率		$10^{-4.8}$	$10^{-3.7}$	$10^{-4.5}$	$10^{-1.5}$	$10^{-3.5}$
圧力損失 (mmHg)		136	348	500以上	46	269

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

93

産業上の利用可能性

本発明の白血球選択除去フィルター材を構成する多孔質素子は、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積の割合が高く、圧力損失を増大させることなく効率良く白血球を除去することができる。また、このフィルター材を充填してなるフィルター装置は小型化が可能であり、白血球浮遊液を処理すると輸血時の副作用が軽減され、かつ白血球以外の有用な赤血球や血小板等の成分は除去されることなく回収されるため、良好な輸血による治療効果が得られることが期待される。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

94

請求の範囲

(1) 平均孔径が $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の多孔質素子からなり、該多孔質素子の全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ (多孔質素子) であって、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 90% 以上である、白血球浮遊液から白血球を選択的に除去するための白血球選択除去フィルター材。

(2) 多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であり、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 60% 以上である請求項 1 記載の白血球選択除去フィルター材。

(3) 多孔質素子の孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 50% 以上である請求項 2 記載の白血球選択除去フィルター材。

(4) 多孔質素子の孔径 $1 \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 38% 以下であり、孔径 $30 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積が全細孔容積の 6% 以下である請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(5) 多孔質素子の臨界湿潤表面張力が少なくとも 65 dyne/cm である請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(6) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-6} \sim 3 \text{ meq/m}^2$ の密度で塩基性官能基を有している請求項 1 ～ 5 のいずれか

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

95

に記載の白血球選択除去フィルター材。

(7) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-4} \sim 5 \text{ meq} / \text{m}^2$ の密度で酸性官能基を有している請求項1～5のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(8) 多孔質素子が $0.3 \sim 3.0 \mu\text{m}$ の平均繊維径を有する編布、織布および不織布より選ばれる繊維状多孔性媒体である請求項1～7のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(9) 多孔質素子が多孔膜および三次元網目状の連続孔を有するスポンジ状構造物から選ばれる多孔質体である請求項1～7のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(10) 該白血球浮遊液が白血球含有赤血球製剤であり、多孔質素子の平均孔径が $3 \sim 25 \mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml} / \text{ml}$ であって、このうち孔径 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の85%以上である請求項1に記載の白血球選択除去フィルター材。

(11) 多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2 / \text{ml}$ であって、該多孔質素子の孔径 $2 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の50%以上である請求項10に記載の白血球選択除去フィルター材。

(12) 多孔質素子の孔径 $2 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の35%以上である請求項11に記載の白血球選択除去フィルター材。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

96

(13) 多孔質素子の孔径 $2\ \mu\text{m}$ 未満の細孔部分の容積および表面積が全細孔容積および全細孔表面積のそれぞれ 8% 以下および 40% 未満である請求項 10～12 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(14) 多孔質素子の臨界湿潤表面張力が $65\sim 90\ \text{dyn/cm}$ である請求項 10～13 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(15) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-4}\sim 3\ \text{meq/m}^2$ の密度で塩基性官能基を有している請求項 10～14 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(16) 多孔質素子が、その表面に、 $5\times 10^{-2}\sim 5\ \text{meq/m}^2$ の密度で酸性官能基を有している請求項 10～14 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(17) 多孔質素子が $0.3\sim 3.0\ \mu\text{m}$ の平均繊維径を有する編布、織布および不織布より選ばれる繊維状多孔性媒体である請求項 10～16 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(18) 多孔質素子が多孔膜および三次元網目状の連続孔を有するスポンジ状構造物より選ばれる多孔質体である請求項 10～16 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(19) 該白血球浮遊液が白血球含有血小板製剤であり、多孔質素子の平均孔径が $1\sim 15\ \mu\text{m}$ 、孔径 $1\sim 25\ \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 85% 以上である請求項 1 記載

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

97

の白血球選択除去フィルター材。

(20) 多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (多孔質素子) であって、孔径 $1 \sim 25 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 58% 以上である請求項19記載の白血球選択除去フィルター材。

(21) 多孔質素子の孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 55% 以上である請求項20記載の白血球選択除去フィルター材。

(22) 多孔質素子の孔径 $25 \mu\text{m}$ を超える細孔部分の容積および表面積が全細孔容積および全細孔表面積のそれぞれ 10% 以下および 4% 以下である請求項19～21のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(23) 多孔質素子の臨界湿潤表面張力が少なくとも 85 dyne/cm である請求項19～22のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(24) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-6} \sim 10^{-1} \text{ meq/m}^2$ の密度で塩基性官能基を有している請求項19～23のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(25) 多孔質素子が、その表面に、 $10^{-4} \sim 1 \text{ meq/m}^2$ の密度で酸性官能基を有している請求項19～23のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(26) 多孔質素子が $0.3 \sim 3.0 \mu\text{m}$ の平均繊維径を有する編布、織布および不織布より選ばれる繊維状多孔性媒体

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

98

である請求項 19～25 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(27) 多孔質素子が多孔膜および三次元網目状の連続孔を有するスポンジ状構造物より選ばれる多孔質体である請求項 19～25 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

(28) 平均孔径が $1 \sim 25 \mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.40 \sim 0.95 \text{ ml/ml}$ (主多孔質素子) であり、このうち孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の容積が全細孔容積の 90% 以上である主多孔質素子を包含する多孔質構造体を、白血球浮遊液の入口と出口を有する容器内に充填してなる白血球浮遊液から白血球を選択除去するための白血球選択除去フィルター装置。

(29) 主多孔質素子の全細孔表面積が $0.50 \sim 5.70 \text{ m}^2/\text{ml}$ であり、孔径 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 60% 以上である請求項 28 記載の白血球選択除去フィルター装置。

(30) 主多孔質素子の孔径 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が全細孔表面積の 50% 以上である請求項 29 記載の白血球選択除去フィルター装置。

(31) 該多孔質構造体が、主多孔質素子の白血球浮遊液上流側に主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも 1 つの多孔質素子を有し多孔質構造体の平均孔径が $1 \sim 300 \mu\text{m}$ になるように構成されており、浮遊液が流

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

99

される方向に対して多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に0.5mm以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している請求項28～30のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター装置。

(32) 多孔質構造体上流側の平均孔径が10～300 μ m、多孔質構造体下流側の平均孔径が1～25 μ mであり、かつ、上流側の平均孔径が下流側平均孔径の2～100倍である請求項31記載の白血球選択除去フィルター装置。

(33) 上記多孔質構造体が、白血球浮遊液の白血球の60%以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材と、第2ステージの白血球捕捉材からなり、第2ステージの白血球捕捉材は上記の主多孔質素子であって、第1ステージの白血球捕捉材が第2ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されてなる請求項28～32のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター装置。

(34) 白血球浮遊液が白血球含有赤血球製剤であり、上記の主多孔質素子の平均孔径が3～25 μ m、孔径2～30 μ mの細孔部分の容積が全細孔容積の85%以上であり、孔径2～30 μ mおよび孔径2～10 μ mの細孔部分の表面積が全細孔表面積のそれぞれ50%以上および35%以上である請求項28記載の白血球選択除去フィルター装置。

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

100

(35) 該多孔質構造体が、該主多孔質素子の赤血球製剤上流側に該主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも1つの多孔質素子を有し多孔質構造体の平均孔径が $3 \sim 300 \mu\text{m}$ になるように構成されており、赤血球製剤が流される方向に対して多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に 0.5 mm 以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している請求項34記載の白血球選択除去フィルター装置。

(36) 多孔質構造体上流側の平均孔径が $15 \sim 300 \mu\text{m}$ 、多孔質構造体下流側の平均孔径が $3 \sim 25 \mu\text{m}$ であり、かつ、上流側平均孔径が下流側平均孔径の $3 \sim 100$ 倍である請求項35記載の白血球選択除去フィルター装置。

(37) 多孔質構造体が赤血球製剤の白血球の60%以上を捕捉する第1ステージの白血球捕捉材と、第2ステージの白血球捕捉材からなり、第2ステージの白血球捕捉材は上記の主多孔質素子であって、第1ステージの白血球捕捉材が第2ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されてなる請求項34～36のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター装置。

(38) 白血球浮遊液が白血球含有血小板製剤であり、上記の主多孔質素子の平均孔径が $1 \sim 15 \mu\text{m}$ であり、孔径 $1 \sim$

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

101

25 μm の細孔部分の容積が全細孔容積の 85 % 以上であつて、孔径 1 ~ 25 μm および孔径 1 ~ 10 μm の細孔部分の表面積が全細孔表面積のそれぞれ 58 % 以上および 55 % 以上である請求項 28 記載の白血球選択除去フィルター装置。

(39) 該多孔質構造体が、該主多孔質素子の血小板製剤上流側に該主多孔質素子の平均孔径より大きな平均孔径を有する少なくとも 1 つの多孔質素子を有し多孔質構造体の平均孔径が 1 ~ 200 μm になるように構成されており、白血球製剤が流される方向に対して多孔質構造体の上流側及び下流側の両表面から多孔質構造体の厚み方向に 0.5 mm 以下の部分をそれぞれ多孔質構造体の上流側及び下流側と定義すると、上流側から下流側に向かって多孔質構造体の平均孔径が実質的に連続的または段階的に減少している請求項 38 記載の白血球選択除去フィルター装置。

(40) 多孔質構造体上流側の平均孔径が 10 ~ 200 μm 、多孔質構造体下流側の平均孔径が 1 ~ 15 μm であり、かつ、上流側平均孔径が下流側平均孔径の 2 ~ 60 倍である請求項 39 記載の白血球選択除去フィルター装置。

(41) 多孔質構造体が血小板製剤の白血球の 60 % 以上を捕捉する第 1 ステージの白血球捕捉材と、第 2 ステージの白血球捕捉材からなり、第 2 ステージの白血球捕捉材は上記の主多孔質素子であつて、第 1 ステージの白血球捕捉材が第 2 ステージの白血球捕捉材に対して上流側に配置されてなる請

WO 93/03740

PCT/JP92/01064

1 0 2

求項 3 8 ~ 4 0 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター装置。

(4 2) 処理すべき血小板製剤に含まれる血小板 2×10^{10} 個当たりの多孔質構造体の全表面積が $0.01 \sim 0.08 \text{ m}^2$ となるように構成されてなる請求項 3 8 ~ 4 1 のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター装置。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/JP92/01064

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) *		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int. Cl ⁵ A61K35/14, A61M1/34		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched *		
Classification System	Classification Symbols	
IPC	A61K35/14, A61M1/34	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are included in the Fields Searched *		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT *		
Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
X, Y	JP, A, 3-173825 (Terumo Corp.), July 29, 1991 (29. 07. 91), & EP, A, 419346	1-4, 8-13, 17-22, 26- 30, 34
Y	JP, A, 3-173824 (Terumo Corp.), July 29, 1991 (29. 07. 91), (Family: none)	1, 8, 9, 28
Y	JP, A, 3-47131 (Terumo Corp.), February 28, 1991 (28. 02. 91), & EP, A, 408462	1-3, 8-13, 17, 18, 28-30
Y	JP, A, 64-75014 (Terumo Corp.), March 20, 1989 (20. 03. 89), & EP, A, 378646	1, 8, 9, 28
A	JP, A, 58-206527 (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), December 1, 1983 (01. 12. 83), (Family: none)	7, 16, 25
<p>* Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"A" document member of the same patent family</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
November 24, 1992 (24. 11. 92)	December 15, 1992 (15. 12. 92)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
Japanese Patent Office		

国際調査報告

国際出願番号PCT/JP92/01064

I. 発明の属する分野の分類		
国際特許分類 (IPC) Int. Cl⁵ A61K35/14, A61M1/34		
II. 国際調査を行った分野		
調査を行った最小限資料		
分類体系	分類記号	
IPC	A61K35/14, A61M1/34	
最小限資料以外の資料で調査を行ったもの		
III. 関連する技術に関する文献		
引用文献の ※ カテゴリー	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	請求の範囲の番号
X, Y	JP, A, 3-173825 (テルモ株式会社), 29. 7月. 1991 (29. 07. 91), &EP, A, 419346	1-4, 8- 13, 17- 22, 26- 30, 34
Y	JP, A, 3-173824 (テルモ株式会社), 29. 7月. 1991 (29. 07. 91), (ファミリーなし)	1, 8, 9, 28
Y	JP, A, 3-47131 (テルモ株式会社), 28. 2月. 1991 (28. 02. 91), &EP, A, 408462	1-3, 8- 13, 17, 18, 28- 30
Y	JP, A, 64-75014 (テルモ株式会社), 20. 3月. 1989 (20. 03. 89), &EP, A, 378646	1, 8, 9, 28
※引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日の後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリーの文献		
IV. 証 証		
国際調査を完了した日 24. 11. 92	国際調査報告の発送日 15.12.92	
国際調査機関 日本国特許庁 (ISA/JP)	権限のある職員 特許庁審査官	4, 0, 9, 1, 6, 5 横 尾 俊 一

国際出願番号 PCT/JP 2 / 01064

第2ページから続く情報

A	<p>(Ⅲ欄の続き)</p> <p>JP, A, 58-206527 (旭化成工業株式会社), 1. 12月. 1983 (01. 12. 83), (ファミリーなし)</p>	7, 16, 25
---	--	--------------

V. ☐ 一部の請求の範囲について国際調査を行わないときの意見

次の請求の範囲については特許協力条約に基づく国際出願等に関する法律第8条第3項の規定によりこの国際調査報告を作成しない。その理由は、次のとおりである。

1. ☐ 請求の範囲_____は、国際調査をすることを要しない事項を内容とするものである。
2. ☐ 請求の範囲_____は、有効な国際調査をすることができる程度にまで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。
3. ☐ 請求の範囲_____は、従属請求の範囲でありかつ PCT 規則 6.4(a)第2文の規定に従って起草されていない。

VI. ☐ 発明の単一性の要件を満たしていないときの意見

次に述べるようにこの国際出願には二以上の発明が含まれている。

1. ☐ 追加して納付すべき手数料が指定した期間内に納付されたので、この国際調査報告は、国際出願のすべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加して納付すべき手数料が指定した期間内に一部分しか納付されなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付があった発明に係る次の請求の範囲について作成した。
請求の範囲_____
3. ☐ 追加して納付すべき手数料が指定した期間内に納付されなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲に最初に記載された発明に係る次の請求の範囲について作成した。
請求の範囲_____
4. ☐ 追加して納付すべき手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加して納付すべき手数料の納付を命じなかった。

追加手数料異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加して納付すべき手数料の納付と同時に、追加手数料異議の申立てがされた。
- ☐ 追加して納付すべき手数料の納付に際し、追加手数料異議の申立てがされなかった。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.